

Aus dem Institut für Phytopathologie
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. H. Schmutterer

**Wirkung des systemischen Fungizids Triforine gegen
Weizenbraunrost und Welkekrankheiten der Tomate**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Angewandte Biologie
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von
Chukwuwetalu Ebenebe
B.Sc. Hon. (Bot. & Zool.) und Dipl. Ing. agr.
aus Oge/Nigeria

Gießen 1972

Aus dem Institut für Phytopathologie
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. H. Schmutterer

**Wirkung des systemischen Fungizids Triforine gegen
Weizenbraunrost und Welkekrankheiten der Tomate**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Angewandte Biologie
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von
Chukwuwetalu Ebenebe
B.Sc. Hon. (Bot. & Zool.) und Dipl. Ing. agr.
aus Oghe/Nigeria

Gießen 1972



Dekan: Professor Dr. Dr. h.c. v. Boguslawski

1. Berichterstatter: Professor Dr. F. Großmann

2. Berichterstatter: Professor Dr. E. Küster

Tag der mündlichen Prüfung: 29. August 1972

	Seite
I. <u>EINLEITUNG</u>	1
A. <u>Problemstellung</u>	1
B. <u>Beschreibung der Versuchspilze und der zugehörigen Schadbilder</u>	3
a. Zur Wahl der Versuchsorganismen	3
b. <u>Puccinia recondita f. sp. tritici</u>	4
c. <u>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</u> und <u>Verticillium albo-atrum</u>	4
II. <u>VERSUCHE MIT BRAUNROST</u>	7
A. <u>Material und allgemeine Methoden</u>	7
a. Anzucht des Weizens	7
b. Fungizidbehandlungen	8
1. Blattbehandlung	9
2. Wurzelbehandlung	9
3. Saatgutbehandlungen	10
c. Inokulation der Weizenpflanzen	11
d. Auswertung des Rostbefalls	13
e. Statistische Auswertung der Ergebnisse	13
B. <u>Ergebnisse</u>	14
a. Versuche mit nicht radioaktiv markiertem Triforine	14
1. Einfluss von Triforine auf die Keimung von Braunrostsporen auf Weizenblättern	14
2. Ermittlung der wirksamen Dosis bei Blattapplikation (Dosage-Response-Curve)	16
3. Vergleich der protektiven und kurativen Wirkung von Triforine	17
4. Dauer der protektiven Wirkung bei Blattapplikation	20
5. Wirkungszeitraum bei postinfektioneller Blattapplikation	20

6. Wirkung einer zweimaligen Blattbehandlung mit Triforine	22
7. Einfluss von Saatgutbehandlungen	23
i. Einquellung in Triforine-Suspension	23
ii. Trockenbeize	23
iii. Inkrustierung	25
8. Wirkungsdauer von Triforine im Boden	26
9. Einfluss der Temperatur auf die Aufnahme von Triforine durch das Weizenblatt	28
10. Transport von Triforine im Weizenblatt	30
11. Prüfung auf Phytotoxizität	32
12. Fungizide Wirksamkeit der Blindformulierung	34
b. Versuche mit radioaktivem Triforine ("Dosage-Response-Curve") nach Wurzelbehandlung	36
1. Herstellung der radioaktiven "Tauchlösung"	36
2. Behandlung der Weizenpflanzen	37
3. Extraktion der Pflanzen	38
4. Dünnschichtchromatographie	38
5. Methodik der Radioaktivitätsmessung	39
6. Ergebnisse des Radioaktivitätsversuches	40
C. <u>Diskussion der Ergebnisse: Braunrost</u>	47
III. <u>VERSUCHE MIT WELKEKRANKHEITEN DER TOMATE</u>	55
A. <u>Versuche in vitro</u>	56
a. Material und Methoden	56
b. Ergebnisse	57
1. Einfluss von Triforine (G 144) auf das Myzelwachstum	57
2. Einfluss des reinen Wirkstoffs sowie einer Blindformulierung auf das Myzelwachstum	61

	Seite
B. <u>Versuche in vivo</u>	64
a. Material und Methoden	64
1. Anzucht der Tomatenpflanzen	65
2. Inokulation der Pflanzen	66
3. Fungizidapplikation	66
4. Versuchsauswertungen	67
b. Ergebnisse	68
1. Wirkung von Triforine (G 144) auf <u>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</u>	68
2. Wirkung einer Blindformulierung von Triforine gegenüber <u>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</u>	72
3. Wirkung von Triforine (G 144) auf <u>Verticillium albo-atrum</u>	75
4. Prüfung der Phytotoxizität von Triforine gegenüber Tomaten	77
i. Phytotoxizität in Abhängigkeit vom Alter der Pflanzen	77
ii. Vergleich der phytotoxischen Wirkung von Wirkstoff und Blindformulierung	80
C. <u>Diskussion der Ergebnisse: Welkekrankheiten der Tomate</u>	82
IV. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	87
V. <u>SUMMARY</u>	92
VI. <u>SCHRIFTTUM</u>	96

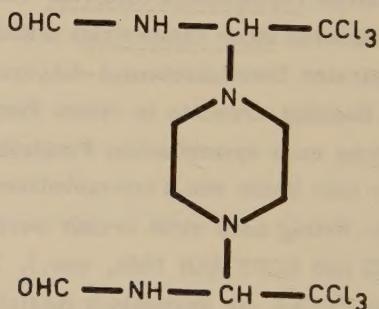
I. EINLEITUNG

A. Problemstellung

Schon relativ frühzeitig hat man sich Gedanken darüber gemacht, ob durch phytopathogene Pilze hervorgerufene Pflanzenkrankheiten mit Hilfe von systemisch wirkenden Fungiziden bekämpft werden können. Bereits BOLLEY (1905) versuchte, die "plum pockets disease" der Pflaume, hervorgerufen durch Taphrina pruni, durch Injektion von Chemikalien in die Wirtspflanze zu bekämpfen. RUMBOLD (1915) injizierte Substanzen in Kastanienbäume, um dadurch den Erreger des Kastaniensterbens (Endothia parasitica) unter Kontrolle zu bringen; er scheint jedoch keinen Erfolg gehabt zu haben. Auf gleiche Weise versuchten BROOKS und BAILEY (1919) mit Teilerfolg, Stereum purpureum in Pflaumen zu bekämpfen. Erst im Jahre 1941 gelang es HOWARD, den durch Phytophthora cactorum verursachten "bleeding canker" des Feldahorns (Acer campestre) mittels des systemisch wirksamen Präparates Diamioazobenzol-dehydrochlorid zu bekämpfen. Dieses positive Resultat erweckte in vielen Forschern ein neues Interesse an der Suche nach systemischen Fungiziden. In den Jahren danach wurde über eine Reihe von Tastergebnissen berichtet, wenn auch ein durchschlagender Erfolg noch nicht erzielt werden konnte (LIVINGSTON 1953, JAWORSKI und HOFFMAN 1963, usw.). 1966 entdeckten von SCHMELING und KULKA die systemisch-fungizide Wirksamkeit von 2,3-Dihydro-5-carboxanilido-6-methyl-1,4-oxathiin (vitavax) und dem verwandten Präparat Plantvax, womit Bohnenrost (Uromyces appendiculatus) und erstmals auch Gerstenflugbrand (Ustilago nuda) chemotherapeutisch bekämpft werden konnten. Damit wurde die Hoffnung der Phytopathologen verstärkt, daß Pflanzenkrankheiten durch den breiten Einsatz systemischer Fungizide in der Praxis bekämpft werden können. Vor allem auf Grund der Einführung differenzierterer Testverfahren

im 'Screening' gelang seitdem die Entwicklung und Auffindung einer Reihe von recht vielversprechenden Wirkstoffen mit kurativem Effekt, die zum Teil bereits als Handelspräparate im Pflanzenschutz Eingang gefunden haben.

Ziel dieser Arbeit war es, ein im Jahre 1967 von der Firma C. H. Boehringer Sohn (Ingelheim) entwickeltes systemisches Fungizid - Piparazin - 1,4 - diyl - bis - [1-(2,2,2-trichloräthyl)-formamid] - auf seine Wirkung gegen den Braunrost des Weizens und die Fusarium- und Verticillium-Welke an Tomaten zu prüfen. Diese Verbindung wurde zunächst unter der Chiffre Cela W 524 bekannt, trägt zur Zeit den vorgeschlagenen Handelsnamen "Triforine" und hat folgende Strukturformel:



B. Beschreibung der Versuchspilze und der zugehörigen Schadbilder

a. Zur Wahl der Versuchsorganismen

Nach McCALLAN und WELLMAN (1943 a) ist die Prüfung der fungiziden Wirksamkeit einer Substanz auf getopften Pflanzen an gewisse Voraussetzungen gebunden. Die Wirtspflanze soll leicht und schnell anzu ziehen sein, sich einheitlich entwickeln, einen offenen Habitus aufweisen, nicht zu empfindlich gegenüber Spritzdruck sein und möglichst wirtschaftliche Bedeutung besitzen. Unsere Versuchsobjekte Weizen und Tomaten erfüllen diese Bedingungen weitgehend. Der für den Test herangezogene Schadpilz soll gut auf Nährmedien wachsen, relativ schnell und reichlich Infektionsmaterial bilden und ebenfalls wirtschaftlich wichtig sein. Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici und Verticillium albo-atrum als Erreger von Welkekrankheiten der Tomate, ferner Puccinia recondita f. sp. tritici als Ursache des Weizenbraunrostes besitzen diese erforderlichen Eigenschaften. Sporen für Infektionszwecke können bei Braunrost - einem obligaten Parasiten - schnell und reichlich auf lebenden Weizenpflanzen produziert werden. Es ist ferner notwendig, daß die Krankheit durch einfache Inokulations- und Inkubationsverfahren leicht und reproduzierbar erzeugt werden kann, und sowohl deutliche als auch gut meßbare Symptome aufweist. Weizenbraunrost sowie die Fusarium- und Verticillium-Welke der Tomate erfüllen diese Voraussetzungen und sind darüber hinaus wirtschaftlich wichtige Pflanzenkrankheiten (WOLLENWEBER und REINKING 1935, ENGELHARD 1957, SAARI et al. 1968, TAYLOR 1968).

Nach den angeführten Maßstäben sind also die gewählten Versuchsorganismen zur Prüfung der Wirksamkeit von Triforine gut geeignet.

b. Puccinia recondita f. sp. tritici

Der Braunrosterreger des Weizens - Puccinia recondita Rob. ex Desm. f. sp. tritici Eriks. - gehört zu der Klasse der Basidiomyzeten, der Ordnung Uredinales und der Familie der Pucciniaceae (ALEXOPOULOS 1960). Die rostbraunen Uredolager sind vorwiegend auf der Blattoberseite, manchmal aber auch auf den Blattscheiden und Halmen zerstreut anzutreffen. Der Pilz ist heterözisch (wirtswechselnd) (GÄUMANN 1959). Der Hauptwirt ist Weizen, Triticum vulgare; es können aber auch andere Triticum - Arten infiziert werden. Auf dem Hauptwirt entwickeln sich die Uredolager und die Teleutolager mit den entsprechenden Sporen (TAKAHASHI et. al. 1965, JACKSON und YOUNG 1967). Auf Thalictrum - Arten, den Nebenwirten, bilden sich die Pyknidien, ferner die Aecidien mit Aecidiosporen. Für eine optimale Sporenkeimung benötigt Braunrost eine Temperatur von etwa 20° C (STOCK 1931). Während das Licht die Keimung der Uredosporen des Schwarzrostes (Puccinia graminis) verzögert, spielt es bei der Keimung der Braunrost-Uredosporen offenbar keine Rolle (STOCK 1931; siehe auch GASSNER und APPEL 1927). Zur Keimung brauchen die Sporen eine Luftfeuchte von ca. 100 % (PELTIER 1925; FROMME 1915); ein höherer CO₂-Gehalt in der Luft als normal ist hierbei günstig.

In sehr vielen Ländern stellt der Braunrost des Weizens eine der wichtigsten Getreidekrankheiten dar (SÄVULESCU 1933, STEINER 1930, SAARI et al. 1968). Dies trifft besonders für Länder wie Kanada, die Vereinigten Staaten, Südamerika und Australien zu, in denen Weizen den größten Teil der Getreideanbaufläche einnimmt. Zahlreiche Wissenschaftler, die sich mit den genetischen Aspekten von Braunrost - und verwandten Arten - beschäftigen, haben festgestellt, daß diese Pilze sehr stark zur Aufsplitterung in Rassen neigen (STAKMAN 1914, MAINS und JACKSON 1926, DODOFF 1931, SCHLICHER 1933, HASSEBRAUK 1938, SAARI et al. 1968, usw). Neue, virulente Rassen können durch Bastard

dierung oder Mutation entstehen (SAMBORSKI 1962). Gegenüber neuen Wirtssorten sind die Roste damit sehr anpassungsfähig und können neu eingekreuzte Resistenzgene überspielen. Diese Probleme erschweren die Resistenzzüchtung und betonen die Bedeutung chemischer Bekämpfungsmaßnahmen. Mit herkömmlichen, protektiv wirksamen Fungiziden war bislang eine wirtschaftlich vertretbare Kontrolle der Roste kaum möglich. Seit langem hoffte man daher, daß die Entdeckung neuer, systemischer Wirkstoffe hier Abhilfe schaffen könnte. Nach der Entwicklung von Triforine erschien es daher zweckmäßig, auch dieses neue Fungizid auf seine Wirkung gegen den Braunrost des Weizens zu prüfen.

c. Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici und Verticillium albo - atrum

Taxonomisch gehören die beiden Pilze zu der Formordnung der Moniliales innerhalb der Formklasse der "Fungi imperfecti". Während Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici (Sacc.) Snyder & Hansen der Familie der Tuberculariaceae angehört, wird Verticillium albo-atrum Reinke & Berth zu jener der Moniliaceae gestellt (SKINNER et al. 1947).

In Sterilkultur erzeugt Fusarium häufig rote bis violette Farbstoffe. Die Konidienträger sind entweder dünn und einfach oder robust und verzweigt; die Konidien erscheinen hyalin und kommen in zwei verschiedenen Formen vor: Die Makrokonidien sind mehrfach septiert und sichelförmig gebogen, während die Mikrokonidien einzellig und meist eiförmig sind. Verticillium hat in Kultur eine lederartige Textur; die Konidienträger sind schmal und in Wirteln angeordnet. Die Konidien, ebenso wie die Träger hyalin, sind einzellig und werden apikal einzeln oder in Büscheln gebildet.

Die von den beiden Pilzen an Tomatenpflanzen - zumindest der Sorte "Bonny Best" - hervorgerufenen Welkekrankheiten sind symptomatologisch kaum voneinander zu unterscheiden (vgl. auch WOLLENWEBER 1913

und KOSSWIG 1955). Der einzige wesentliche Unterschied besteht in der Geschwindigkeit des Krankheitsverlaufs, der sich bei Verticillium langsam und bei Fusarium viel rascher vollzieht (siehe auch HERBERT und HUBBARD 1932). Fusarium scheint also eine größere Aggressivität als Verticillium zu besitzen. Beide Erreger sind weltweit verbreitete phytopathogene Bodenpilze mit einem großen Wirtspflanzenkreis. Dies trifft vor allem für Verticillium zu, das mehr Pflanzenarten aus vielen Familien infizieren kann als irgendein anderer Welkeerreger (HIMMELICK 1968). Die Wirtspflanzen werden von Fusarium und Verticillium vom Boden her angegriffen. Die Pilze durchwachsen im Gefäßsystem akropetal die ganze Pflanze. Das Temperaturoptimum der Infektion liegt bei Fusarium um 27°C (WOLLENWEBER und REINKING 1935) und bei Verticillium um 20°C (BEWLEY 1922). In beiden Fällen ist für die Pathogenese ausreichende Belichtung nötig.

Eines der ersten sichtbaren Symptome der Verticillium- oder Fusarium-Welke ist eine epinastische Erscheinung an den oberen, jüngeren Blättern. Die Blätter welkender Tomatenpflanzen krümmen sich abwärts, erschlaffen, und schrumpfen ein, meistens unter gleichzeitiger Vergilbung. Sie fallen vorzeitig ab oder bleiben trocken am Stengel hängen. Bei schwerem Befall trocknet die ganze Pflanze samt Stengel ein. Der Vergilbung, die vorwiegend in akropetaler Richtung an der Pflanze fortschreitet, folgen Nekrosen der Blattspreiten und schließlich das Welken der Blattstiele und Stengel und damit der ganzen Pflanze. GOTTLIEB (1944a) berichtet jedoch von Fällen basipetal gerichteter Vergilbung. In unseren Versuchen wurden auch einige regellos fortschreitende Vergilbungen beobachtet. Manchmal wächst das Myzel aus dem Pflanzeninnern hervor und verleiht dann der Pflanzenbasis das Aussehen der "Weißhosigkeit". Die kranken Pflanzen zeigen stets Wachstumshemmung ("stunted condition", siehe auch NORTON 1933). Die Wurzelmasse wird erheblich reduziert. Das Gefäßsystem wird verbräunt; dieses innere

Symptom tritt immer auf (WELLMAN 1941). Oft täuschen Nährstoffmängel, Phytotoxizitätserscheinungen usw. eine Welkeerkrankung durch Fusarium bzw. Verticillium vor, indem sie auf den Blättern ähnliche Symptome erzeugen wie die beiden Pilze. In solchen Fällen gilt die Bräunung der Gefäße als sicheres Kennzeichen für Fusarium- oder Verticillium-Befall. Auch die Gefäßbräunung entwickelt sich akropetal. Die Früchte frühzeitig befallener Tomaten bleiben klein, reifen unvollkommen und schmecken fade (WOLLENWEBER und REINKING 1935). Sowohl Fusarium als auch Verticillium können in Abwesenheit von Wirtspflanzen im Boden viele Jahre saprophytisch überleben (SUBRAMANIAN 1946, 1950, ZACHARIAH 1949, WILHELM 1955).

II. VERSUCHE MIT BRAUNROST

A. Material und allgemeine Methoden

Uredosporen des Braunrosterregers (Puccinia recondita Rob. ex Desm. f. sp. tritici Eriks.) wurden freundlicherweise von Prof. Dr. J. Kranz (Tropeninstitut der Universität Giessen, Abt. Phytopathologie und Angewandte Entomologie) zur Verfügung gestellt. Alle Versuche wurden mit Winterweizen der Sorte "Jubilar" durchgeführt.

a. Anzucht des Weizens

Zur Anzucht wurden ungebeizte Weizenkörner in Plastiktöpfe (6 cm Durchmesser) mit Erde folgender Zusammensetzung ausgesät: 3 Teile Lehm, 1 Teil Frankfurter Klärschlamm und 1 Teil Torf. Das Erdgemisch wurde zur Entseuchung stets mit Terabol begast. Die besäte Erde wurde feuchtgehalten, die heranwachsenden Pflänzchen aber nicht zusätzlich gedüngt. Die Weizenanzucht erfolgte in einem Gewächs-

haus bei Temperaturen um 25°C. In der lichtarmen Jahreszeit erhielten die Pflanzen zusätzliches Licht aus Quecksilberlampen. Angaben über das Pflanzenalter beziehen sich auf den Tag der Aussaat. Abgesehen von Prüfungen zur Phytotoxizität von Triforine liefen die eigentlichen Versuche (rostinfizierter Weizen) in einem thermostatisch geregelten Klimaschrank bei einer Temperatur von 18°C, 40 - 50 % Luftfeuchtigkeit, einer Lichtintensität von ca. 5000 Lux und mit einem Rhythmus von 16 Stunden Licht und 8 Stunden Dunkelheit. Mittels eines automatischen, eingebauten Gebläses wurde der Klimaschrank in Abständen von etwa fünf Minuten durchlüftet. Je nach der Art des Versuchs bestand jedes Versuchsglied aus 4, 5, 6 oder mehr Wiederholungen.

b. Fungizidbehandlungen

Das systemische Fungizid Triforine ist eine farb- und geruchlose Verbindung, deren Molekulargewicht 434,9 beträgt. Sein Zersetzungspunkt liegt um 170°C. Die Substanz ist in den meisten Lösungsmitteln nur wenig löslich. In Wasser beispielsweise lösen sich nur 4 ppm,⁺⁾ in Dimethylformamid (DMF) und N-Methylpyrrolidon dagegen 30 g bzw 40 g/100 ml.

<u>Toxizität</u>	LD ₅₀	akut p. o:
	Maus:	6000 mg/kg
	Ratte:	6000 mg/kg
	Fisch	(<u>Lebites reticulatus</u>): keine Toxizität bei 50 ppm in Wasser
	Biene:	keine Toxizität bei 100 ppm im Futter

Der Wirkstoff wurde in den Versuchen in verschiedenen Formulierungen geprüft:

+) Diese Angabe stammt von SCHICKE (1969). Nach OST et al. (1971) ist die Löslichkeit in Wasser 30 ppm.

1. Emulsionskonzentrat mit 20% Wirkstoff (= WF 114)
2. Suspensionspulver - "wetable powder" (wp) mit 50%
Wirkstoff
3. Beizpulver mit 80% Wirkstoffanteil

Die Applikation des Fungizids auf junge Weizenpflanzen erfolgte durch Blatt-, Wurzel- oder Saatgutbehandlung. Für Blatt- und Wurzelanwendung wurde stets mit der Formulierung WF 114 gearbeitet, bei Saatgutbehandlungen dagegen mit Beizpulver (mit Ausnahme eines Einquellungsversuches). Zur Bodenbehandlung in einem Versuch wurde das Suspensionspulver mit 50% Wirkstoff verwendet.

Alle Angaben zur Konzentration beziehen sich stets auf den reinen Wirkstoff und nicht auf die verwendete Formulierung.

1. Blattbehandlung

Bei Blattapplikation wurde die jeweilige Wirkstoffsuspension in der gewünschten Konzentration mittels eines Zerstäubers auf die Pflanzen gesprüht. Dabei erhielt jeder Topf in der Regel 10 ml der mit destilliertem Wasser entsprechend verdünnten Suspension. Durch Schräghalten der Töpfe, in denen die Pflanzen wuchsen, konnte beim Sprühen einigermaßen verhindert werden, daß das Mittel direkt an die Wurzeln der Weizenpflanzen gelangte. Nach dem Sprühen wurden die Töpfe noch solange schräg gelagert, bis die Pflanzen wieder trocken waren.

2. Wurzelbehandlung

Abgesehen von einigen gesondert beschriebenen Versuchen wurden bei Wurzelbehandlungen mittels einer Pipette jeweils 10 ml einer Suspension von WF 114 in der gewünschten Konzentration tropfenweise und möglichst gleichmäßig auf die Erdoberfläche eines Topfes

aufgebracht, ohne daß das Mittel direkt auf die Pflanzen gelangte. Eventuell durchsickernde Flüssigkeit wurde in einer Petrischalenhälfte aufgefangen und auf den Topf zurückgegossen. Auch bei der späteren Bewässerung der Pflanzen wurde auf diese Weise verfahren.

3. Saatgutbehandlungen

Bei der Behandlung von Saatgut mit dem Fungizid wurden verschiedene Methoden angewendet. In einem Versuch wurden jeweils 20 g Weizenkörner in 50 ml einer entsprechend konzentrierten Suspension von Triforine (WF 114) für 16 Stunden eingequollen. Die Gefäße wurden während dieser Zeit auf einer Schüttelmaschine gehalten, um eine gleichmäßige Verteilung des Wirkstoffes zu gewährleisten. Nach Waschen der Körner in destilliertem Wasser und Trocknen auf Filterpapier erfolgte 24 Stunden nach der Behandlung die Aussaat in Töpfe.

Neben der geschilderten Methode zur Saatgutbehandlung wurden Weizenkörner in anderen Versuchen auch trocken gebeizt oder mit dem Fungizid inkrustiert.

Bei der Trockenbeizung wurden Proben von 40 g Saatgut unterschiedliche Mengen Beizpulver zugesetzt, wobei den einzelnen Versuchsgliedern jeweils soviel Talkum zugefügt wurde, daß die Gesamtmenge in dem Versuchsglied mit dem höchsten Präparateaufwand erreicht wurde. Der eigentliche Beizvorgang erfolgte dann in geschlossenen Behältern auf einer langsam rotierenden Schüttelmaschine für 60 Minuten. 3 Tage nach der Beizung wurden die Körner ausgesät.

Zur Inkrustierung wurden Weizenkörnern (50 g/Gefäß) zunächst Leinöl (0,5 ml je Probe) zugegeben, das durch einstündiges Rotieren auf der genannten Schüttelmaschine an das Saatgut angerieben wurde. Nach an-

schließendem Hinzufügen der gewünschten Menge an Beizpulver wurden die Proben erneut für weitere 90 Minuten mechanisch durchgemischt. Die Aussaat erfolgte 24 Stunden später in Töpfe.

Um ein Auswachsen des Wirkstoffes zu verhindern, wurden die Töpfe nach Saatgutbehandlung stets von unten her bewässert.

c. Inokulation der Weizenpflanzen

Nach ihrer Voranzucht im Gewächshaus wurden die Weizenpflanzen mindestens 24 Stunden vor der Inokulation in einem Klimaschrank aufgestellt. Der Inokulation dienten drei verschiedene Methoden: Teilweise wurden die Uredosporen in Leitungswasser suspendiert und anschließend mit kleinen Wattestäbchen (handelsübliche "Q-Tips") gleichmäßig auf der Oberfläche der Primärblätter verteilt. In anderen Fällen wurden gleichartige Sporensuspensionen mit Hilfe eines an eine elektrische Pumpe angeschlossenen Zerstäubers auf die Pflanze gesprüht.

Da die Uredosporen dazu neigen, auf der Wasseroberfläche zu schwimmen, was ein gleichmäßiges Ausbringen praktisch ausschließt, wurde ein spezieller Zerstäuber aus Glas entwickelt (vgl. Abb. 1). Im Gegensatz zu den sonst üblichen Typen, die nach dem Prinzip eines Parfüm-Flakons arbeiten, enthält dieses Gerät zusätzlich ein Röhrchen, das mit der Druckleitung in Verbindung steht und gleichzeitig bis zum Boden des Zerstäubers und damit in die Sporensuspension hineinragt. Durchperlen-
de Luft erzeugt in der Flüssigkeit ständige Turbulenz ("Turbulenzröhrchen c" in Abb. 1), was eine gleichmäßige Verteilung der Sporen in der Suspension gewährleistet. Das Gerät kann auch zum gleichmäßigen Ausbringen von Fungiziden dienen, wenn die verwendete Formulierung unter den geschilderten Umständen keinen Schaum bildet.

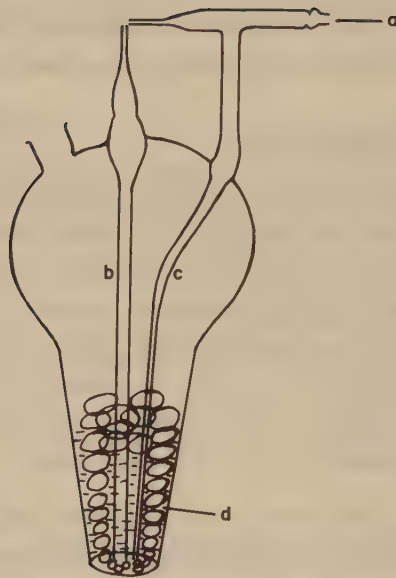


Abb. 1: Turbulenzzerstäuber zum Besprühen von Pflanzen mit Suspensionen von Pilzsporen oder Fungiziden.

a = Anschluß für Druckpumpe

b = Saugröhrchen

c = Turbulenzröhrchen

d = Sporen- bzw. Fungizidsuspension

Zur Pilzerhaltung diente eine dritte, sehr einfache Infektionsmethode: Von sporentragenden Weizenpflanzen wurden die Sporen auf die Blattoberfläche von Jungpflanzen abgeklopft und diese anschließend mit Lei-

tungswasser besprüht.

Alle inokulierten Pflanzen wurden anschließend für ca. 40 Stunden in einer dunklen Feuchtkammer bei einer Luftfeuchtigkeit von ca. 100% und einer Temperatur von 18⁰C gehalten. Danach standen sie während der gesamten Versuchsdauer in dem bereits beschriebenen Klimaschrank.

d. Auswertung des Rostbefalls

Zu diesem Zweck wurden entweder alle Pusteln (Uredolager) auf dem inokulierten Primärblatt ausgezählt, oder der Krankheitsgrad wurde nach einem sechsstufigen Schema (0 - 5; 0 = kein Befall, 5 = gesamtes Blatt dicht mit Pusteln besetzt) bonitiert. Dieses Schema ist eine Modifikation der von COBB (1892) entwickelten und von PETERSON et al. (1948) veröffentlichten Skala. Nach der Bonitierung konnte der Befallsindex für jeden Topf nach folgender Formel berechnet werden:

$$\text{Index} = \frac{\text{Summe der Einzelboniturwerte je Topf}}{\text{Zahl der Pflanzen je Topf} \times 5} \times 100$$

e. Statistische Auswertung der Ergebnisse

Zur statistischen Sicherung der Ergebnisse wurden bei fast allen Versuchen varianzanalytische Auswertungen vorgenommen⁺⁾ . Die Einzeldaten wurden im Rechenzentrum des Physikalischen Institutes der Universität Giessen zunächst auf Lochkarten umgeschrieben und anschließend mit Hilfe fertiger Grundprogramme im Computer durchgerechnet. Bei den Ergebnissen dieser Arbeit werden Grenzdifferenzen für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5%, 1% und 0,1% angegeben.

⁺⁾ An dieser Stelle sei Herrn Dr. G. Müller, Abteilung für Biometrie der Landwirtschaftlichen Fakultät (jetzt Fachbereich Angewandte Biologie) der Universität Giessen, für die freundliche Unterstützung bestens gedankt.

B. Ergebnisse

a) Versuche mit nicht radioaktiv markiertem Triforine

1. Einfluss von Triforine auf die Keimung von Braunrostsporen auf Weizenblättern

9 Tage alte Weizenpflanzen wurden in zwei Gruppen (1 und 2) eingeteilt und wie folgt behandelt:

Gruppe 1: Nach vorsichtigem Auswaschen aller anhaftenden Bodenpartikel aus den Wurzeln wurden die Pflanzen in verschiedenen konzentrierte Triforine-Suspensionen (250 bzw. 1000 ppm, Formulierung WF 114) übertragen, die nicht mit Wasser, sondern mit Nährlösung ("Substral") angesetzt worden waren. Die Blätter tauchten nicht in die Flüssigkeit ein, in der die Pflanzen während der gesamten Versuchsdauer verblieben.

Gruppe 2: In diesem Falle wurden die Pflanzen mit den gleichen Suspensionen wie oben angegeben besprüht (10 ml/Topf), die Wurzeln anschließend ausgewaschen und wiederum für die gesamte Versuchsdauer in Substralnährlösung übertragen. Die Kontrollpflanzen erhielten keinen Wirkstoff, wurden jedoch entweder mit der Nährlösung besprüht und anschließend in Substral gestellt (Kontrollpflanzen für Gruppe 2) oder einfach in die Nährlösung übertragen (Kontrollpflanzen für Gruppe 1). 20 Stunden nach der Behandlung erfolgte die Inokulation mit Hilfe von Q-Tips. Nach anschließender Inkubation in einer dunklen Feuchtkammer bei 18°C und 100 % Luftfeuchtigkeit für 24 Stunden konnten die Keimungsprozente der Sporen unter dem Mikroskop (mit Auflichteinrichtung) ermittelt werden (je Blatt insgesamt etwa 100 Sporen ausgezählt). Hierfür war es nötig, die inokulierten Blätter von den Pflanzen abzuschneiden. Nach der ersten Auswertung erfolgte eine

zweite nach weiteren 24 Stunden; in der Zwischenzeit befanden sich die Blätter wiederum in der genannten Feuchtkammer.

Tabelle 1: Prozentsatz gekeimter Braunrosturedosporen auf Weizenblättern nach Blatt- oder Wurzelbehandlung der Wirtspflanzen mit Triforine (WF 114).

(GD_{5%} = 3, 2; GD_{1%} = 4, 4; GD_{0.1%} = 5, 7)

Konzentration (ppm)	Prozentsatz gekeimter Sporen nach			
	Blattbehandlung		Wurzelbehandlung	
	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 24 Std.	nach 48 Std.
unbehandelt	79, 3	92, 1	79, 3	92, 1
250	10, 9	63, 8	52, 0	78, 3
1000	1, 2	2, 2	43, 8	57, 1

Aus den Ergebnissen (Tab. 1) wird deutlich, daß Triforine die Keimung von Braunrosturedosporen auf Weizenblättern stark hemmt, wobei die Hemmung mit steigendem Fungizidaufwand zunimmt und nach Blattapplikation wesentlich ausgeprägter ist als nach Wurzelanwendung. Besprühen der Blätter mit 1000 ppm des Wirkstoffs führte zu fast völliger Blockierung der Sporenkeimung. Ein direkter Vergleich der Wirkung nach Blatt- bzw. Wurzelbehandlung ist natürlich kaum möglich. Immerhin lassen die Resultate darauf schließen, daß das Fungizid von den Wurzeln aufgenommen und bis in die Blätter transportiert wurde.

2. Ermittlung der wirksamen Dosis bei Blattapplikation

(Dosage-Response-Curve)

Um die Abhängigkeit der Wirkung des Fungizids von der Aufwandmenge bei Blattapplikation festzustellen, wurden zunächst 9 Tage alte Weizenpflanzen durch Besprühen mit Sporensuspension inokuliert und anschließend mit verschiedenen konzentrierten Lösungen von Triforine (WF 114) gespritzt. 9 und 13 Tage nach der Inokulation erfolgte die Bonitierung auf Rostbefall.

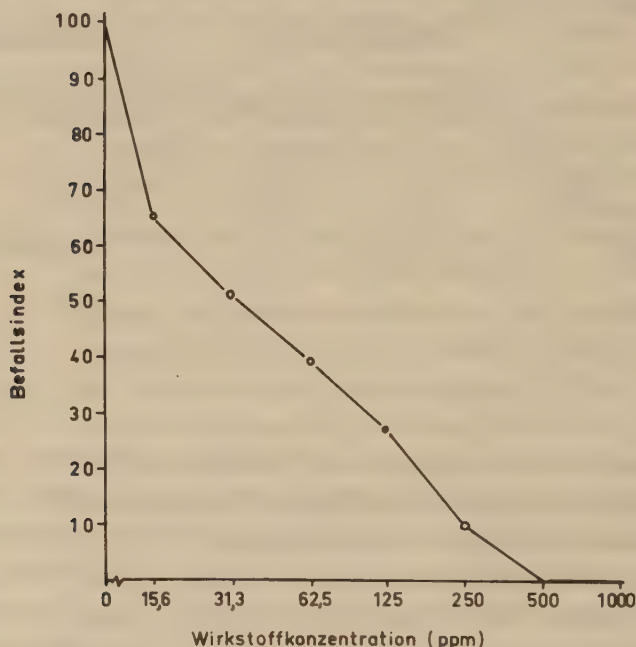


Abb. 2: Einfluß von Triforine (WF 114) auf den Braunrostbefall an Weizen bei Blattapplikation in verschiedenen Dosierungen unmittelbar nach der Inokulation. Auswertung 13 Tage nach der Inokulation.

Schon bei einer Konzentration von 250 ppm wurde 9 Tage nach der Inokulation kein Rostbefall registriert. Selbst bei 125 ppm war die Befallsstärke zu diesem Zeitpunkt unwesentlich. Nach weiteren 4 Tagen (13 Tage nach der Inokulation) war das Bild etwas anders (Abb. 2); Nach Applikation von Suspensionen mit 500 bzw. 1000 ppm Präparat hatten sich keine Pusteln entwickelt, dagegen betrug nach Anwendung von 250 ppm der Befall hier etwa 10% der unbehandelten Kontrolle. Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß Triforine neben einer fungiziden auch eine fungistatische Wirkung gegen den Weizenbraunrost aufweist. Es wurde ferner bemerkt, daß die bei 125 und 250 ppm entwickelten Pusteln atypisch und kleiner waren, als bei der unbehandelten Kontrolle. Eine dritte Auswertung 20 Tage nach der Inokulation zeigte keine Änderung im Befall gegenüber der Bewertung am 13. Tag. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß bei Blattbehandlung unter den gewählten Versuchsbedingungen die wirksame Dosis von Triforine bei einer Konzentration von weniger als 500 ppm liegt.

3. Vergleich der protektiven und kurativen Wirkung von Triforine

In einem einfachen Experiment sollte geklärt werden, ob Triforine sowohl protektiv als auch kurativ gegenüber Weizenbraunrost wirksam ist. Dafür wurden 11 Tage alte Weizenpflanzen in drei Gruppen (a, b und c) eingeteilt. Die Pflanzen der Gruppe a wurden 5 Tage vor und jene der Gruppe b 5 Tage nach der Inokulation mit verschiedenen konzentrierten Suspensionen des Fungizids (WF 114) besprüht. Gruppe c diente als unbehandelte, aber inokulierte Kontrolle. Die Inokulation erfolgte mit Hilfe von Wattestäbchen. 12 Tage nach der Inokulation wurden die gebildeten Pusteln ausgezählt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt und lassen erkennen, daß Triforine bei Blattanwendung sowohl protektiv als auch kurativ gegen Weizenbraunrost wirkt. Der protektive Effekt war dem kurativen deutlich überlegen.

Tabelle 2: Braunrostbefall von Weizen nach einer unterschiedlich dosierten Blattbehandlung mit Triforine (WF 114). Applikation des Fungizids 5 Tage vor bzw. 5 Tage nach der Inokulation.

Konzentration	Pustelzahl je Blatt	
	Blätter 5 Tage <u>vor</u> der Inokulation behandelt	Blätter 5 Tage <u>nach</u> der Inokulation behandelt
unbehandelt	283	283
125 ppm	7	126
250 ppm	1	25
500 ppm	0	9
1000 ppm	0	0
GD _{5%}	17	17
GD _{1%}	23	23
GD _{0,1%}	30	30

Zur gleichen Fragestellung wurde ein ähnlicher Versuch mit Wurzelapplikation des Präparates durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 dargestellt und bestätigen, daß der Wirkstoff durch die Wurzeln aufgenommen und akropetal in die Blätter geleitet wird. Präinfektionelle Anwendung war weitaus wirksamer als postinfektionelle Behandlung der Pflanzen: Im günstigsten Fall - Applikation 5 Tage vor der Inokulation

bei einer Konzentration von 1000 ppm - konnte der Befall auf etwa 1 - 2% der Kontrolle gesenkt werden. Unter sonst gleichen Versuchs-
umständen ist der kurative Effekt vergleichsweise sehr ungünstig: Bei
1000 ppm wurde bei nachinfektioneller Wurzelanwendung die Pustel-
zahl nur auf etwa ein Drittel der Kontrolle gedrückt.

Tabelle 3: Braunrostbefall von Weizen nach einer unterschiedlich do-
sierten Wurzelbehandlung mit Triforine (WF 114). Appli-
kation des Fungizids 5 Tage vor bzw. 5 Tage nach der
Inokulation.

Konzentration	Pustelzahl je Blatt	
	Applikation 5 Tage <u>vor</u> der Inokulation	Applikation 5 Tage <u>nach</u> der Inokulation
unbehandelt	314	314
125 ppm	230	182
250 ppm	197	154
500 ppm	16	158
1000 ppm	5	114
GD _{5%}	36	36
GD _{1%}	48	48
GD _{0,1%}	64	64

4. Dauer der protektiven Wirkung bei Blattapplikation

Weizenpflanzen wurden jeweils 12, 9, 6, 3 und 0 Tage vor der Inokulation mit Triforine-Suspension (WF 114; Wirkstoffkonzentration: 500 ppm) gespritzt. Zum Zeitpunkt der Inokulation, die durch Besprühen mit Rostsporen erfolgte, waren die Pflanzen 23 Tage alt. 15 Tage danach wurden die Pflanzen auf Rostbefall bonitiert. Es stellte sich heraus, daß Triforine bei einer Konzentration von 500 ppm die Entwicklung von Weizenbraunrost selbst dann völlig zu unterdrücken vermag, wenn das Fungizid zwischen 9 und 12 Tagen vor der Infektion appliziert worden war.

Daraufhin wurde ein weiterer Versuch angesetzt, um die Dauer der protektiven Wirkung von Triforine in Abhängigkeit von der Wirkstoff-Konzentration zu ermitteln. Zu jedem Termin - 12, 9, 6, 3 und 0 Tage vor der Inokulation - wurden die Pflanzen jeweils mit Suspensionen von 0, 125, 250 und 500 ppm Wirkstoffgehalt besprüht. Die Inokulation aller Pflanzen dieses Versuchs fand am gleichen Tag statt und 11 Tage später wurde der Befall bonitiert. Die Ergebnisse demonstrierten wiederum die günstigen protektiven Eigenschaften von Triforine: Nach Spritzung mit 125 bzw. 250 ppm war nur dann ein schwacher Rostbefall zu verzeichnen, wenn die Applikation 12 Tage vor der Inokulation stattfand; bei kürzeren Abständen unterdrückte das Fungizid den Befall vollständig. Spritzung mit 500 ppm führte bei allen Anwendungsterminen, also auch 12 Tage vor der Inokulation, zu völliger Befallsfreiheit. Offensichtlich ist die Dauer der protektiven Wirkung eine Funktion der Aufwandmenge.

5. Wirkungszeitraum bei postinfektioneller Blattapplikation

Zeitlich gestaffelte, postinfektionelle Spritzungen sollten zeigen, inwieweit Triforine in der Lage ist, die Entwicklung von Braunrostpusteln selbst dann zu unterdrücken, wenn die Applikation des Fungizids in späteren Stadien der Inkubationszeit erfolgt. Zu diesem Zweck wurden 9 Tage alte Weizenpflanzen einheitlich inokuliert und in den einzelnen Versuchsgliedern 2, 4, 6 bzw. 8 Tage danach mit Triforine-Suspensionen (WF 114) unterschiedlicher Konzentration besprüht. Die Bonitierung auf Rostbefall wurde 13 Tage nach der Inokulation vorgenommen.

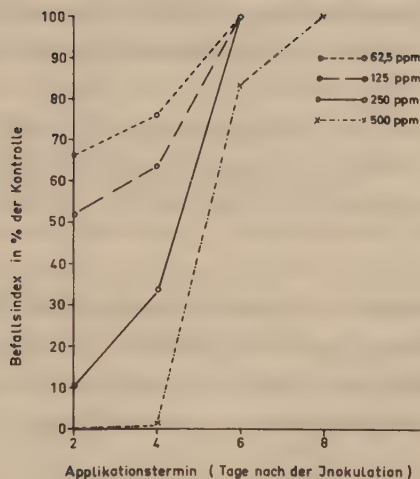


Abb. 3: Einfluß einer unterschiedlich dosierten Blattbehandlung auf den Braunrostbefall des Weizens. Triforine (WF 114) wurde zu verschiedenen postinfektionellen Terminen appliziert. Auswertung 13 Tage nach der Inokulation.

Wie aus Abb. 3 hervorgeht, besteht eine Beziehung zwischen der Wirkstoffkonzentration und dem Ausmaß des therapeutischen Effekts. Die Krankheit konnte unter den Versuchsbedingungen nur dann völlig unter Kontrolle gebracht werden, wenn 500 ppm des Fungizids 2 bzw. 4 Tage nach der Inokulation eingesetzt wurden; eine Behandlung 6 oder 8 Tage p. i. war bei der gleichen Aufwandmenge fast unwirksam.

Wie ersichtlich, war der chemotherapeutische Effekt bei Verwendung niedriger konzentrierter Fungizidsuspensionen im allgemeinen recht unbefriedigend.

6. Wirkung einer zweimaligen Blattbehandlung mit Triforine

In den bisher geschilderten Experimenten war Triforine stets nur einmal appliziert worden. Es interessierte jedoch auch, wie sich eine wiederholte Behandlung der Pflanzen mit Triforine auf den Braunrostbefall auswirkt. Zu diesem Zweck wurden 9 Tage alte Pflanzen zunächst durch Besprühen mit einer Sporensuspension inokuliert, zwei und vier Tage später mit Triforine-Lösungen unterschiedlicher Konzentration gespritzt und schließlich 14 Tage nach der Inokulation bonitiert.

Tabelle 4: Braunrostbefall von Weizen nach zweimaliger Blattbehandlung der Wirtspflanzen mit Triforine (WF 114). Applikation des Fungizides zwei und vier Tage nach der Inokulation. Auswertung 14 Tage nach der Inokulation.

Konzentration (ppm)	Befallsindex
0	100
31,25	78,3
62,5	66,2
125	45,8
250	0,0
500	0,0
GD _{5%}	8,8
GD _{1%}	12,1
GD _{0,1%}	16,5

Nach Tab. 4 liegt die Grenzkonzentration für eine völlige Kontrolle des Pilzes bei zweimaliger Anwendung unter den Versuchsbedingungen zwischen 125 und 250 ppm.

Ein Vergleich zwischen Tab. 4 und Abb. 3 läßt erkennen, daß durch eine Wiederholung der Blattbehandlung das Ausmaß der therapeutischen Wirkung von Triforine nicht unwesentlich verbessert wird. Bei niedrigen Konzentrationen (62,5 ppm und darunter) war der Vorteil der zweimaligen Blattbehandlung jedoch fraglich.

7. Einfluss von Saatgutbehandlungen

i. Einquellung in Triforine-Suspension

Eine Saatgutbehandlung wurde zunächst durch Einquellen der Weizenkörner in unterschiedlich konzentrierte Fungizid-Suspensionen (WF 114) in der Weise vorgenommen, wie dies bereits früher beschrieben wurde (vgl. Material und Methoden). 10 Tage nach der Aussaat wurden die jungen Pflänzchen mit Hilfe von Q-Tips mit Uredosporen inokuliert und nach weiteren 12 Tagen auf Braunrostbefall bonitiert.

Abb. 4 stellt die Ergebnisse dar. Obwohl gegenüber der unbehandelten Kontrolle ein sehr gut gesicherter Unterschied im Befallsindex schon bei 250 ppm festgestellt wurde, konnte selbst bei 2000 ppm (der höchsten Einquellungskonzentration) noch ein Rostbefall von mehr als 70 % registriert werden. Zwischen den verschiedenen Konzentrationen lag kein wesentlicher Unterschied in der Wirkung gegen den Rostbefall vor.

ii. Trockenbeize

Aus trocken gebeizten Weizenkörnern entwickelte Pflanzen wurden im Alter von 9 Tagen mit Hilfe von Q-Tips mit Rostsporen inokuliert. 15 Tage nach der Inokulation erfolgte die Bewertung des Rostbefalls. Durch die Beizung konnte eine gewisse Befallsminderung erzielt wer-

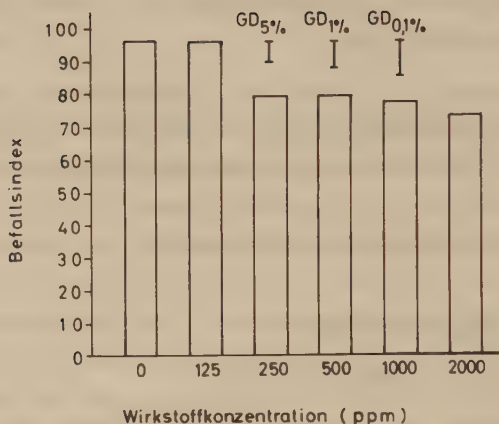


Abb. 4: Einfluß der Einquellung von Weizenkörnern in unterschiedlich konzentrierte Lösungen von Triforine (WF 114) vor der Aussaat auf den Braunrostbefall der inokulierten jungen Weizenpflanzen.

Auswertung 12 Tage nach der Inokulation.

den, die bei einem Wirkstoffaufwand von 400 g/100 kg Weizen jedoch nur etwa 37% betrug (Abb. 5). Bei niedrigeren Aufwandmengen war das Ergebnis noch unbefriedigender. Gegenüber den Resultaten des zuvor besprochenen Versuchs war hier aber eine klarere Abhängigkeit des Beizerfolges von der jeweils eingesetzten Aufwandmenge gegeben.

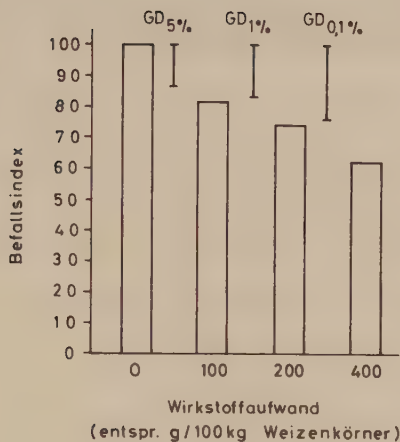


Abb. 5: Einfluß der Trockenbeize von Weizenkörnern mit unterschiedlichen Wirkstoffmengen vor der Aussaat auf den Braunrostbefall der jungen Weizenpflanzen.

Auswertung 15 Tage nach der Inokulation.

iii. Inkrustierung

9 Tage nach der Aussaat wurden die aus inkrustierten Weizenkörnern herangewachsene Pflanzen durch Besprühen mit Sporensuspension inokuliert und nach weiteren 18 Tagen auf Braunrostbefall beurteilt.

Zwischen den behandelten und den unbehandelten Pflanzen konnte eine sehr gut gesicherte Differenz im Befallsindex ermittelt werden (Abb. 6); bei 1000, 2000 und 4000g Wirkstoff/100 kg Weizen war die Wirksamkeit des Fungizids jedoch praktisch identisch. Erst bei einem Aufwand von 8000g/100kg Saatgut wurde der Befall um mehr als 60% herabgesetzt. Erstaunlicherweise gab es bei dieser sehr hohen Konzen-

tration nur eine geringe Keimverzögerung und kaum phytotoxische Schäden an den sich entwickelnden Pflanzen.

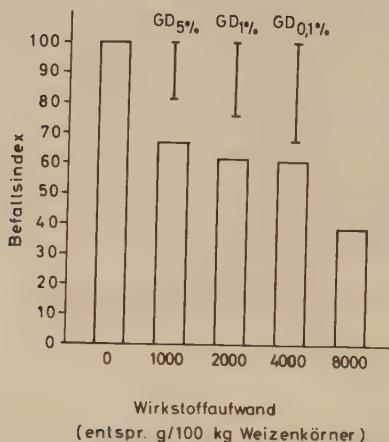


Abb. 6: Einfluß der Inkrustierung von Weizenkörnern vor der Aussaat mit unterschiedlichen Wirkstoffmengen in Form eines Beizpulvers auf den Braunrostbefall der jungen Weizenpflanzen. Auswertung 18 Tage nach der Inokulation.

8. Wirkungsdauer von Triforine im Boden

Zwei Formulierungen von Triforine (Suspensionspulver = WP und WF 114) wurden jeweils mit soviel lufttrockener Erde möglichst gleichmäßig vermischt, daß eine Konzentration von 1g/kg (Wirkstoff/Erde) erreicht wurde. Die Erde wurde dann in 6-cm Plastiktöpfe so verteilt, daß jeder Topf die gleiche Menge des entsprechenden Gemisches enthielt und anschließend befeuchtet. 0, 5, 15 bzw. 45 Tage nach dieser Behandlung wurden jeweils 5 Töpfe mit Weizen besät. Weitere 5

Töpfe mit unbehandelter Erde dienten für jeden Termin als Kontrolle. Die Töpfe, die noch nicht besät waren, wurden konstant feucht gehalten und waren mit einer Kunststoffolie bedeckt. Das Austreten von Sickerwasser wurde vermieden. Die regelmäßige Bewässerung der besäten Töpfe erfolgte stets von unten her, um eine Auswaschung des Wirkstoffes zu verhindern. 10 Tage nach der Aussaat wurden die Pflanzen mit Hilfe von Q-Tips mit Uredosporen inokuliert und nach weiteren 12 Tagen auf Braunrostbefall bonitiert.

Tabelle 5: Wirkungsdauer von Triforine im Boden: jeweils 45, 15, 5 und 0 Tage vor der Aussaat von Weizenkörnern wurden Bodenproben mit Triforine (WF 114 bzw. WP) gemischt (1g/kg Erde) und die sich entwickelnden Pflanzen 10 Tage nach der Aussaat mit Braunrosturedosporen inokuliert.

Termin der Bodenbehandlung (Tage vor Weizenaussaat)	Befallsindex		
	unbehandelt	WF 114	WP
0	100	32,9	0,0
5	100	28,5	0,0
15	100	100	0,0
45	100	100	0,0

Die Ergebnisse (Tab. 5) lassen erkennen, daß das Suspensionspulver eine viel längere Wirkungsdauer im Boden hatte als WF 114. Während das Suspensionspulver über 55 ⁺⁾ Tage hinweg seine volle Wirksamkeit im ⁺⁾ Boden behielt, war mit WF 114 nur ein gewisser Schutz für etwa 15 Tage gegeben.

⁺⁾ Bei der Berechnung der Wirkungsdauer ist zu berücksichtigen, daß die Inokulation jeweils 10 Tage nach der Aussaat stattfand.

9. Einfluss der Temperatur auf die Aufnahme von Triforine durch das Weizenblatt

Für praktische Verhältnisse ist eine Kenntnis der Temperaturabhängigkeit der Fungizidaufnahme wichtig. In einem speziellen Versuch wurden daher 11 Tage alte Weizenpflanzen in 6-cm Plastiktöpfen mit einer Triforine-Suspension (WF 114) mit 200 ppm Wirkstoffgehalt besprüht; jeder Topf enthielt 6 Pflanzen und erhielt 10 ml der Suspension. Sofort nach dieser Behandlung wurden die Pflanzen in 5 Gruppen eingeteilt. Jede Gruppe wurde in einen Glasbehälter (Abb. 7) mit 200 ml aqua dest.gebracht; die Behälter standen vor der Behandlung bereits 4 Tage lang in Thermostaten bei jeweils 0, 8, 16, 24 bzw. 32⁰C ohne Licht. Sie wurden mit Cellophan abgedeckt, das zu den Seiten hin luftdicht mit Klebstreifen befestigt wurde. Als Kontrolle dienten zwei weitere Gruppen von Pflanzen, deren eine behandelt wurde, deren andere aber unbehandelt blieb. Die Kontrollen standen ebenfalls in Feuchtkammern in den entsprechenden Thermostaten. Alle Pflanzen mit Ausnahme der behandelten Kontrollen wurden nach zwölfstündigem Aufenthalt in den Thermostaten unter Leitungswasser für drei Minuten vorsichtig abgespült; nach einem anschließendem Aufenthalt aller Töpfe in einem Lichtschrank für 14 Stunden erfolgte die Inokulation durch Besprühen mit einer Sporensuspension. 11 Tage nach der Inokulation wurde der Rostbefall ermittelt.

Das Ergebnis dieses Versuchs, das in Abb. 8 dargestellt ist, zeigt, daß die Temperatur einen gewissen Einfluß auf die Aufnahme von Triforine durch junge Weizenblätter hat. Offensichtlich nimmt mit steigender Temperatur die Aufnahmerate zu. Interessant ist auch das Resultat, daß bei den behandelten, aber vor der Inokulation nicht abgespülten Kontrollpflanzen der Befallsindex im allgemeinen nur um 20% lag, ein Beweis dafür, daß zum Zeitpunkt des Spülens noch nicht das gesamte applizierte Fungizid in die Blätter eingedrungen war und da-

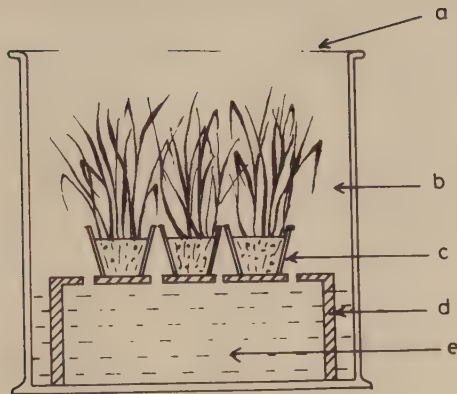


Abb. 7: Schematische Darstellung der Einrichtung zur Ermittlung des Einflusses der Temperatur auf die Aufnahme von Triphorine (WF 114) durch das Weizenblatt (a = Cellophan, b = Feuchtkammer, c = Plastiktöpfe mit Weizenpflanzen, d = gelochtes Holzgestell, e = Wasser).

her schon auf der Blattoberfläche einen Effekt auf die zur Inokulation aufgespritzten Sporen entfalten konnte. Wie die entsprechenden Parallelprüfungen zeigten, hatte der Vorgang des Abspülens der Pflanzen keinen Einfluß auf die Pathogenese der Krankheit. Gewisse Temperaturschäden konnten nur bei jenen Pflanzen beobachtet werden, die im Thermostat bei 32°C inkubiert worden waren.

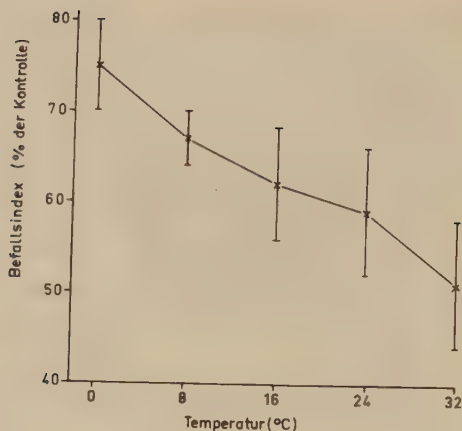


Abb. 8: Einfluß der Temperatur auf die Aufnahme von Triforine (WF 114) durch das Weizenblatt, gemessen am Braunrostbefall: Die Pflanzen wurden nach der Behandlung und vor der Inokulation für 12 Stunden bei verschiedenen Temperaturen in feuchten Kammern im Dunkeln gehalten.

10. Transport von Triforine im Weizenblatt

Es sollte geklärt werden, ob das Fungizid nur am Ort der Aufnahme im Blatt wirksam ist oder aber akro- oder basipetal transportiert werden kann. Zu diesem Zweck wurde ein gesonderter Versuch durchgeführt, der sich methodisch an entsprechende Arbeiten von KRADEL und POMMER (1969) mit Erysiphe graminis anlehnt.

Auf Weizenblättern wurde ein 3 cm langer Abschnitt mit Vaseline eingegrenzt und zusätzlich mit Tinte markiert, wie dies in Abb. 9(a) sche-

matisch gezeigt ist. Eine Fungizidbehandlung erfolgte nur innerhalb dieser Zone durch Aufpinseln einer Suspension von 1000 ppm Triforine (WF 114). 3 Stunden danach wurde die gesamte Blattfläche mit Rosturedosporen inokuliert. Unbehandelte Blätter dienten als Kontrolle.

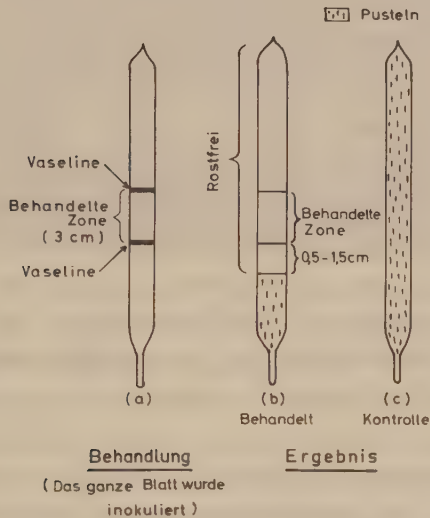


Abb. 9: Schematische Darstellung der sekundären Verteilung von Triforine (WF 114) auf dem Weizenblatt (Details siehe Text).

Nach 11 Tagen waren die unbehandelten Blätter total von Braunrost befallen. Bei den behandelten Blättern waren sowohl die markierten Zonen als auch die gesamten Blattflächen oberhalb derselben voll-

kommen pustelfrei. Auch auf einem Abschnitt von etwa 0,5 - 1,5 cm Länge unterhalb der mit Triforine-Suspension bepinselten Zonen befanden sich keine Pusteln. Auf dem basalen Teil des Blattes war die Pustelverteilung genauso dicht, wie auf dem unbehandelten Weizenblatt (Abb. 9b + c).

Dieses Ergebnis spricht dafür, daß Triforine vor allem akropetal, in geringerem Maße aber auch basipetal transportiert werden kann. Allerdings kann hier eine gewisse Mitwirkung der Begleitsubstanzen der Formulierung nicht ganz ausgeschlossen werden.

11. Prüfung auf Phytotoxizität

Zur Testung der Pflanzenverträglichkeit von Triforine wurden Weizenkörner in mit steriler Erde gefüllte 16-cm Tontöpfe eingesät, neun Tage danach die jungen Pflanzen auf 20 Stück je Topf vereinzelt und nach weiteren zwei Tagen mit Fungizidsuspensionen (WF 114) abgestufter Konzentration besprüht. Dabei erhielt jeder Topf 25 ml der Wirkstoffsuspension. 6 Töpfe dienten als unbehandelte Kontrolle. Nach der Behandlung wurde die weitere Entwicklung der Pflanzen regelmäßig verfolgt. Die endgültige Auswertung des Versuches wurde 25 Tage nach der Behandlung vorgenommen. Untersucht wurde der Einfluß des Mittels auf das Längenwachstum, Frisch- und Trockengewicht sowie den Wassergehalt und Habitus der Pflanzen.

4 Tage nach der Behandlung fielen die Pflanzen, die mit der höchsten Aufwandmenge (1600 ppm) behandelt worden waren, um (Abb. 10), hatten sich nach weiteren sechs Tagen jedoch recht gut wieder erholt und wuchsen dann normal weiter. Neben diesen Pflanzen blieben auch jene, die mit 800 ppm besprüht worden waren, in ihrem Wachstum zunächst zurück, aber dieser anfängliche Rückstand in Längenwachstum wurde bei beiden Versuchsgliedern (800 und 1600 ppm) weitgehend wieder ausgeglichen.

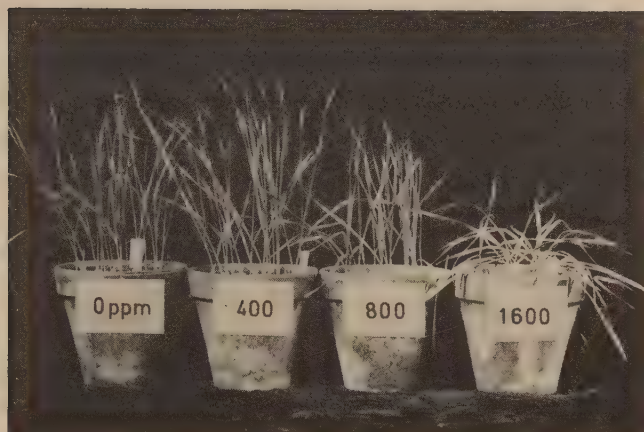


Abb. 10: Einfluß von Triforine (WF 114)-Spritzungen in steigenden Konzentrationen auf die Entwicklung junger Weizenpflanzen. Aufnahme 5 Tage nach der Behandlung (Details s. Text).

Wie aus Tab. 6 hervorgeht, wurde das Trockengewicht selbst bei 1600 ppm nicht beeinflusst. Das Frischgewicht und der Wassergehalt wurden bei Applikation von 800 ppm leicht, bei 1600 ppm stärker gesenkt. Das Längenwachstum blieb bei niedrigem Aufwand - bis 200 ppm - fast unverändert, bei 400 ppm schien es sogar zuzunehmen. Erst bei 800 und 1600 ppm konnte eine Wachstumsminderung registriert werden.

Tabelle 6: Einfluß von Triforine (WF 114)-Spritzungen auf Frisch- und Trockengewicht, Wassergehalt und Längenwachstum des Weizens der Sorte "Jubilar";
Auswertung 25 Tage nach der Behandlung (Details siehe Text).

Konzentration (ppm)	Frischgew. (g)	Trockengew. (g)	Wassergeh. (g)	Längenwachst. (cm)
0	18,2	1,5	16,7	57,5
50	18,3	1,6	16,7	59,7
100	17,5	1,5	16,0	58,7
200	16,3	1,5	14,8	58,7
400	16,3	1,4	14,9	60,4
800	16,0	1,4	14,6	55,3
1600	14,6	1,3	13,3	53,5
GD _{5%}	1,8	0,4	1,8	1,6
GD _{1%}	2,4	0,5	2,4	2,2
GD _{0,1%}	3,2	0,6	3,2	2,8

12. Fungizide Wirksamkeit der Blindformulierung von WF 114

Um nachzuprüfen, ob gegebenenfalls auch die Begleitsubstanzen von Triforine in der Formulierung WF 114 einen fungiziden Effekt entfalten, wurden 9 Tage alte Weizenpflanzen in zwei Gruppen eingeteilt. Die Pflanzen einer Gruppe wurden mit unterschiedlich konzentrierten Sus-

pensionen von Triforine (WF 114), die der anderen Gruppe mit entsprechenden Konzentrationen der Blindformulierung besprüht. 24 Stunden später erfolgte die Inokulation und nach weiteren 13 Tagen konnten die Pflanzen auf Rostbefall beurteilt werden.

Bei Anwendung in niedriger Konzentration hatte die Blindformulierung keinen oder nur einen geringen Einfluß auf die Entwicklung der Pusteln (Tab. 7). Bei 500 ppm zeigte sie jedoch eine sehr gut gesicherte befallsmindernde Wirkung. Bei 1000 ppm reagierte der Braunrost fast gleichartig auf das Präparat und die zugehörige Blindformulierung: In beiden Fällen lag praktisch kein Befall vor.

Tabelle 7: Vergleich des Einflusses von Triforine (WF 114) und der Blindformulierung des Präparates auf Weizenbraunrost. Die Präparate wurden 24 Stunden vor der Inokulation über die Blätter appliziert.

Konzentration (ppm)	Befallsindex nach Behandlung mit	
	Triforine (WF 114)	Blindformulierung
unbehandelt	70,8	70,8
62,5	56,0	75,5
125	35,2	61,1
250	16,1	64,0
500	0,0	31,3
1000	0,0	5,5
GD _{5%}	7,3	7,3
GD _{1%}	9,1	9,1
GD _{0,1%}	12,9	12,9

b. Versuch mit radioaktivem Triforine ("Dosage-Response-Curve"
nach Wurzelbehandlung):

In einem in dieser Arbeit nicht detailliert geschilderten Vorversuch wurde geprüft, wie lange Weizenpflanzen in bestimmten Suspensionen von Triforine stehen müssen, damit durch die Wurzeln eine zur Bekämpfung von Braunrostbefall gerade ausreichende Wirkstoffmenge aufgenommen wird. Die Ergebnisse zeigten eine gegenläufige Beziehung zwischen dieser Zeit und der Wirkstoffkonzentration. Nunmehr sollte untersucht werden, wieviel Triforine in der effektiven "Tauchzeit" bei einer gegebenen Konzentration tatsächlich aufgenommen wird und welche Beziehung zwischen der aktuellen Wirkstoffkonzentration im Blatt und dem Ausmaß der Verhinderung des Rostbefalles durch Triforine vorliegt. Zu diesem Zweck wurde ein Versuch mit tritiummarkiertem (tritiiertem) Triforine durchgeführt. Die Radioaktivität einerseits und die Menge aufgenommenen, markierten Wirkstoffs andererseits wurden in den Primärblättern, dem restlichen grünen Pflanzenteil (in diesem Versuch als "Sproß" bezeichnet) sowie den Wurzeln nach Extraktion und dünnschichtchromatographischer Trennung bestimmt. +)

1. Herstellung der radioaktiven "Tauchlösung"

³H-Triforine wurde von Herrn M. STIASNI aus der radiochemischen Abteilung der Firma C.H. Boehringer Sohn in Ingelheim synthetisiert. Das Fungizid wurde an dem Piperazin-Teil mit Tritium markiert; seine Aktivität betrug 342,4 μ Ci/mg. Nur etwa 0,5% des ³H tauschen

+) Dieser Versuch wurde in dem radiochemischen Labor der Firma C.H. Boehringer Sohn (Ingelheim) durchgeführt. Dem Leiter des Labors, Herrn Dr. V. von Bruchhausen, und seinen Mitarbeitern sei für ihre freundliche Unterstützung bei der Versuchsdurchführung und -auswertung an dieser Stelle herzlich gedankt.

bei längerer Lagerung einer wässrigen Formulierung aus. Die Aktivität wurde während der Herstellung der Formulierung auf 48,8 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ mit "kaltem" Triforine eingestellt. 140,46mg dieser 18,2%igen (Gew./Gew.) Formulierung wurden in 500 ml aqua dest. suspendiert. Die dadurch entstandene Suspension hatte eine Aktivität von $5,33 \times 10^6$ dpm/ml bzw. 2,4 μCi , was einer Wirkstoffkonzentration von 49,2 mg/ml entspricht, und diente als "Tauchlösung" für die Versuchspflanzen (siehe unten).

2. Behandlung der Weizenpflanzen:

Die Wurzeln von 9 Tage alten, in Grobsand angezogenen Weizenpflanzen wurden durch vorsichtiges Waschen von anhaftenden Sandteilchen befreit und anschließend oberflächlich mit Filterpapier abgetrocknet. Von diesen Pflanzen wurden jeweils 20 mit den Wurzeln in ein Becherglas gestellt, das 50 ml der "Tauchlösung" (Wirkstoffkonz. 49,2 mg/ml - siehe oben) enthielt, und für jeweils 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 und 200 Minuten darin belassen. Eine Gruppe von weiteren 20 Pflanzen diente als Kontrolle und stand für 200 Minuten in 50 ml destilliertem Wasser. Nach Ablauf der betreffenden Zeit wurden die Pflanzen aus der Lösung entnommen, wobei die restliche, an den Wurzeln befindliche Wirkstoffsuspension soweit wie möglich in das Becherglas abtropfte. Danach wurden die Wurzeln jeder Pflanzengruppe in drei weiteren Bechergläsern (einmal in jedem Becherglas) mit jeweils 230 ml aqua dest. sorgfältig ausgewaschen, und schließlich die Pflanzen jedes Versuchsgliedes in drei Gruppen mit jeweils 5, 5 und 10 Pflanzen unterteilt. Jede Gruppe mit 5 Einzelpflanzen wurde dann in 30 ml, Gruppen mit 10 Pflanzen in 60 ml Nährlösung ("Substral") gestellt. Die Volumina sowie die Radioaktivität aller Tauch- und Waschflüssigkeiten wurden jeweils sofort nach Abschluß der einzelnen Vorgänge genau bestimmt, um eine vollständige Bilanzierung zu ermöglichen.

24 Stunden nach der Behandlung mit ^3H -Triforine wurden die Pflanzen samt Kontrollen mit Braunrosturedosporen durch Besprühen inokuliert.

3. Extraktion der Pflanzen

Am Tag nach der Behandlung ("Tag 1") sowie nach 6 ("Tag 6") bzw. 13 ("Tag 13") Tagen wurden jeweils 5 Pflanzen aus jedem Versuchsglied ("Tauchzeit" 20, 40, 60, ... bis 200 Minuten) entsprechend der Darstellung in Abb. 11 in drei Teile zerschnitten. Ein Teil des Sproßes, der etwa 2 cm über die Oberfläche der Nährlösung ragte, wurde mit zur Wurzel gerechnet, um äußerliche Kontamination der Sproßteile mit radioaktiver Nährlösung auszuschließen. Alle grünen Teile wurden sofort genau auf $\pm 1\text{mg}$ gewogen, während das Wurzelgewicht nach Abtrocknen mit Filterpapier auf $\pm 10\text{mg}$ genau bestimmt wurde. Die Pflanzenteile wurden nach Zugabe von ca. 0,5 ml Methanol (50%) bei 0°C mit einem Ultraturrax homogenisiert und das Homogenat mit Methanol quantitativ extrahiert und auf 50 ml aufgefüllt. Erfahrungsgemäß enthält ein solcher Extrakt mehr als 95% der ursprünglichen Radioaktivität in den oberirdischen Pflanzenteilen (v. BRUCHHAUSEN 1971). Die Extrakte wurden nach Messung der Radioaktivität für die Dünnschichtchromatographie bei einer Temperatur unter 40°C am Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt. Von allen Nährlösungen wurden, wie vorher geschildert, die Volumina und Radioaktivität bestimmt.

4. Dünnschichtchromatographie:

Nach Aufnehmen des Rückstandes in 0,5 ml Methanol wurden zweimal 25 - 50 μl auf dünnschichtchromatographische Folien (Typ Chromar-sheet 500 - Mallinckrodt) zusammen mit ca. 100 μg "kaltem" Triforine je Fleck aufgetragen. Als Standard diente auf jeder Platte eine Mischung von 25-50 μl Kontrollpflanzenextrakt, ^3H -Triforine

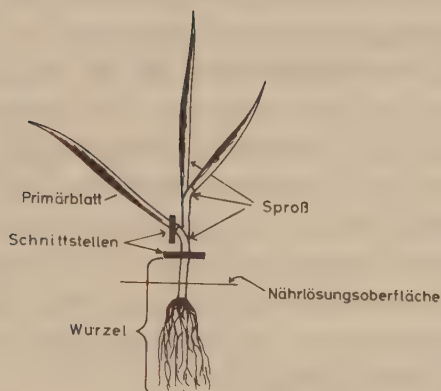


Abb. 11: Schematische Darstellung der Zerteilung einer Weizenpflanze zur Extraktion zwecks Messung der Radioaktivität nach Wurzelbehandlung mit ^3H -Triforine.

aus der verwendeten Formulierung, sowie ca. 100 μg "kaltes" Triforine zur Fluoreszenzunterdrückung im UV.. Das Laufmittel war Benzol-Essigester (20 : 80), in dem alle Metaboliten am Start zurückbleiben, während Triforine bei einem Rf-Wert von ca. 0,75 zu finden ist. Bei der Berechnung der Metabolisierungsrate wurde nach geeigneter Quenchkorrektur die am Startpunkt verbliebene Radioaktivität berücksichtigt.

5. Methodik der Radioaktivitätsmessungen

Die Radioaktivität wurde im Flüssigkeitsszintillationszähler in Cellotol (Zusammensetzung: 20g PPO; 2,0g POPOP; 400g Naphthalin; 3000 ml

Toluol und 2000 ml Methylcellosolve) gemessen. In dünnschichtchromatographischen Untersuchungen wurden die jeweiligen Flecken von Triforine und seiner Metaboliten auf Grund ihrer Fluoreszenzlösung im UV-Licht nach Zugabe entsprechender Mengen des "kalten" Standards lokalisiert. Die Dünnschichtfolie mit den Flecken wurde vorsichtig zerschnitten, in die Teströhrchen (vials) übertragen, mit 0,3 ml wässrigem 50%-igem Methanol geschüttelt und mit Cellotol zu 20 ml aufgefüllt. Ein ^3H -Standard wurde zusammen mit einem Extrakt unbehandelter Pflanzen auf jeder Platte mitchromatographiert und ebenso behandelt. Um zu demonstrieren, daß dabei alle Radioaktivität erfasst wurde, (d.h. daß keine wesentliche Menge Radioaktivität außerhalb der im UV. lokalisierten Flecken von Triforine vorhanden war), wurden einige DC-Folien in kleine Stücke zerschnitten und wie beschrieben gemessen.

6. Ergebnisse des Radioaktivitätsversuches:

13 Tage nach der Behandlung bzw. 12 Tage nach der Inokulation erfolgte die Auswertung auf Braunrostbefall. Die Zahl der Pusteln (Uredolager) auf den Primärblättern der Triforine-behandelten Pflanzen wurde zur entsprechenden Pustelzahl der unbehandelten Kontrolle prozentual in Relation gesetzt. Der nach Subtraktion dieses Prozentsatzes von 100 erhaltene Wert gilt als "Wirkungsgrad" für den fungiziden Effekt des Präparates gegenüber Weizenbraunrost.

Wie aus Abb. 12 ersichtlich, steigt der Wirkungsgrad mit zunehmender Tauchzeit zunächst steil an, nach einer Tauchzeit der Pflanzen von mehr als etwa 80 Minuten jedoch flacht die Kurve bald ab; eine Verlängerung der Tauchzeit über 140 Minuten hinaus bringt keine Verbesserung des Wirkungsgrades, da die Rostentwicklung unter diesen Bedingungen dann bereits total unterdrückt wird.

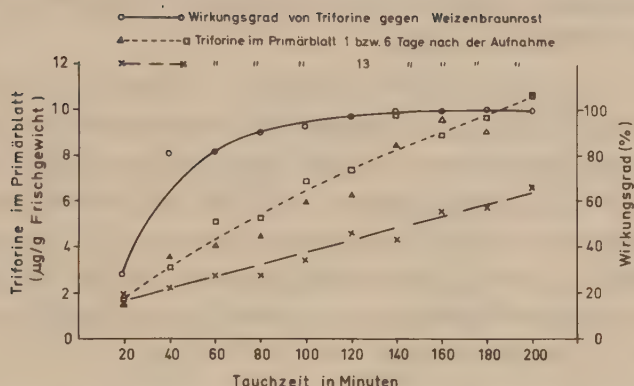


Abb. 12: Einfluß der Tauchzeit von jungen Weizenpflanzen in ^3H -Triforine auf die Konzentration ^{+) von Triforine in den Primärblättern der Pflanzen 1 und 6 Tage nach der Behandlung, sowie auf den Wirkungsgrad des Fungizides gegen den Braunrostbefall der getauchten Weizenpflanzen. Die Pflanzen wurden 24 Stunden nach der Fungizidbehandlung inokuliert.}

Die Konzentration von Triforine im Primärblatt war ein bzw. sechs Tage nach Versuchsbeginn für die einzelnen Tauchzeiten praktisch identisch, für die entsprechenden Meßwerte wurde daher eine gemeinsame Kurve gezeichnet. Im Gegensatz zum Wirkungsgrad ist der Kurvenverlauf für den Fungizid-Gehalt der Blätter selbst nach einer Tauchzeit von

^{+) In diesem Versuch mit radioaktivem Triforine beziehen sich alle Angaben über Wirkstoffkonzentration in der Pflanze stets auf das Frischgewicht.}

200 Minuten noch nicht asymptotisch. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß die Pflanze weitaus mehr Wirkstoff aufzunehmen vermag, als zur effektiven Kontrolle des Rostpilzes notwendig ist. Die Pathogenese ist bereits dann völlig blockiert, wenn sich im Primärblatt etwa $9 \mu\text{g/g}$ des Wirkstoffes befinden.

Es ist interessant, daß im Gegensatz zum Sproß, in dem nach 200 min Tauchzeit die Fungizidaufnahme noch nicht beendet war, die Wurzeln hier ein abweichendes Verhalten zeigen: wie aus Abb. 13 klar hervorgeht, ist nach einer Tauchzeit von rund 100 bis 120 min nach unseren Ergebnissen nicht mit einer weiteren Zunahme der Triforine-Konzentration zu rechnen. Dies deutet darauf hin, daß der von den Wurzeln aufgenommene Wirkstoff zum größten Teil und praktisch sofort akropetal weitergeleitet wird.

Es fällt nun auf, daß die Fungizidkonzentration im Gewebe 13 Tage nach Versuchsbeginn wesentlich niedriger ist als ein bzw. sechs Tage nach der Aufnahme (vgl. Abb. 12). Ganz zweifellos dürfte der Wirkstoff also innerhalb befristeter Zeit innerhalb der Pflanze abgebaut werden. Entsprechende Untersuchungen belegen diese Annahme klar, die Ergebnisse hierzu sind in Abb. 14 dargestellt. 1, 6 bzw. 13 Tage nach Versuchsbeginn wurde der Triforine-Gehalt im Primärblatt, im Sproß und in der Wurzel gemessen. Im Rahmen der Meßgenauigkeit unterscheidet sich die Metabolisierungsrate in den einzelnen Pflanzenteilen nicht wesentlich; nach etwa 7,5 Tagen findet sich in allen Pflanzenteilen nur noch die Hälfte des ursprünglichen Wertes.

Bei dieser Darstellung ist jedoch die Massenzunahme der wachsenden Pflanzen nicht berücksichtigt, die zu einer "Verdünnung" des Fungizids und damit zu einem zusätzlichen Konzentrationsabfall in der Pflanze führt.

Hinzu kommt, daß zweifellos während der Versuchsdauer anfänglich in den Wurzeln vorhandenes Triforine nach und nach akropetal in die Sproßteile transportiert werden kann. Darüber hinaus gelang es trotz dreimaliger Waschung der Wurzeln nach dem Eintauchen in die "heiße" Wirkstoffsuspension nicht, die Nährlösung gänzlich frei von verschlepp-

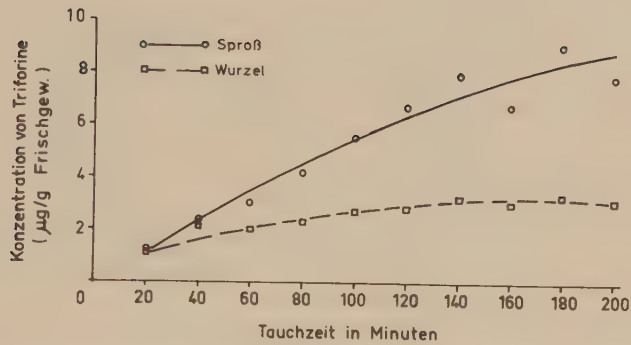


Abb. 13: Triforine-Gehalt im Sproß und in der Wurzel junger Weizenpflanzen 24 Stunden nach ihrer Wurzelbehandlung mit dem Fungizid. Die Pflanzen wurden jeweils für verschiedene Zeiten durch Tauchen in eine Suspension von radioaktiv markiertem Triforine behandelt.

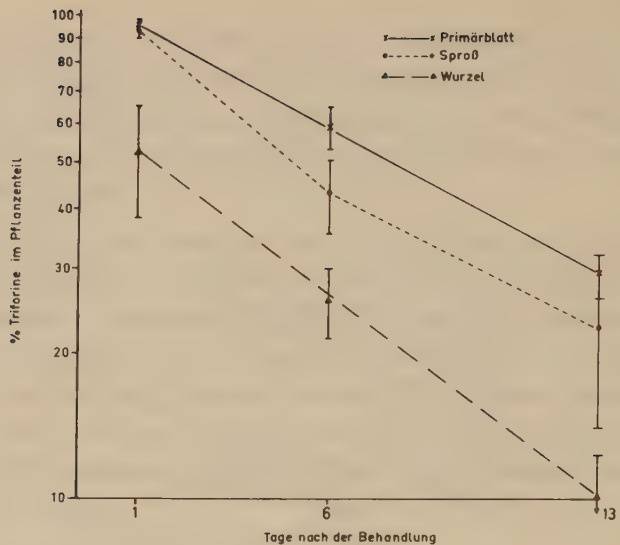


Abb. 14: Abbau von Triforine in drei verschiedenen Organen von Weizenpflanzen (Sorte "Jubilar") nach Wurzelbehandlung mit tritiiertem Fungizid. Der Triforine-Gehalt (Aktivität bei Rf 0, 75) in jedem Pflanzenteil wurde gemessen und die jeweiligen Meßdaten prozentual zur Gesamtaktivität (von Triforine und seinen Metaboliten) des betreffenden Pflanzenteiles in Relation gesetzt.

tem, markiertem Fungizid zu halten. Entsprechend konnte bis zum 13. Tag auch hier noch aus der Nährlösung tritiiertes Triforine in die Pflanze nachgeliefert werden. Daß dies tatsächlich der Fall war, beweisen die Daten in Abb. 15; während vom 1. bis zum 13. Tag nach der Übertragung der Pflanzen in die Nährlösung die Radioaktivität in dieser schrittweise abnimmt, reichert sie sich gleichzeitig in den Primärblättern deutlich an. - Bei der Interpretation der in Abb. 15 dargestellten Ergebnisse ist im Vergleich zu Abb. 14 zu beachten, daß im ersteren Falle die Gesamtradioaktivität der Blätter, im letzteren dagegen die Radioaktivität von Triforine je Einheit Pflanzenmasse zugrundegelegt wurde.

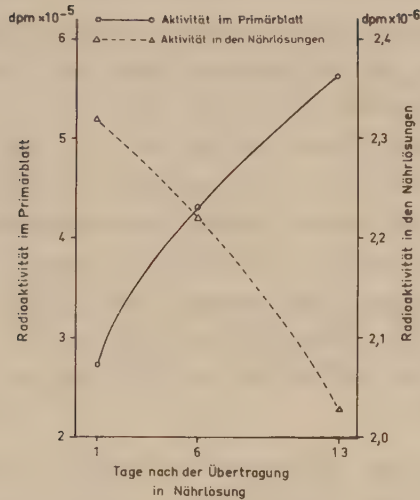


Abb. 15: Veränderungen der Gesamt-Radioaktivität in den Nährlösungen und in den Primärblättern ^3H -Triforine-behandelter Pflanzen während der Versuchsdauer.

Bei der Bestimmung der Restaktivität in den drei Waschbechern wurde festgestellt, daß trotz intensiven Auswaschens immer noch eine erhebliche Radioaktivität an den Wurzeln haften blieb, wie auch die Aktivität in der Nährlösung (Abb. 15) zeigte. Es handelt sich um Mengen, welche die effektive Konzentration im Primärblatt um das 6 - 25fache übersteigen. Daraus kann geschlossen werden, daß ein "pulse labelling" wie es von FUCHS und de VRIES (1969) beschrieben wurde, über Wurzelbehandlung nicht möglich ist. Diese Tatsache muß in Erwägung ge-

zogen werden, wenn eine "Dosage-Response-Curve" eines Fungizids in einem Parasit/Wirt-System gezeichnet werden soll, und zwar vor allem, wenn es sich um einen Wurzelparasiten handelt.

Die oben geschilderten Zusammenhänge erklären auch die zunächst merkwürdige Tatsache, daß der Triforine-Gehalt der Primärblätter trotz des zweifellos stattfindenden Abbaus (vgl. Abb. 14) 1 und 6 Tage nach der Behandlung praktisch gleich war (vgl. Abb. 12). Offenbar wurde in diesem Zeitraum der Abbau des Fungizids durch Nachlieferung aus der Nährlösung und aus den Wurzeln gerade kompensiert. Daraus kann der Schluß gezogen werden, daß unter den Versuchsbedingungen in der für die Rostentwicklung entscheidenden Phase bis zu 4 - 5 Tagen nach der Inokulation (vgl. EBENEBE et al. 1971 und Abb. 3 dieser Arbeit) mit einer annähernd gleichbleibenden Fungizidkonzentration in den Blättern zu rechnen war.

Abschließend wird die Abhängigkeit des Wirkungsgrades von der jeweiligen Triforine-Konzentration im Blatt in Abb. 16 dargestellt; die Einzeldaten wurden den Angaben in Abb. 12 entnommen. Man erkennt, daß für einen Wirkungsgrad von 50% ein Fungizidgehalt im Primärblatt von rund 2,5 µg/g Frischgewicht ausreichend ist. Geht man davon aus, daß eine Substanz erst dann als wirksam anzusehen ist, wenn sie im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle den Befall um 75% zu senken vermag (MÜLLER 1968), so liegt die erforderliche Dosis hierfür bei einer Triforine-Konzentration von etwa 4 µg/g FG. Für die totale Unterdrückung des Pilzes sind entsprechend 9 µg/g FG notwendig.

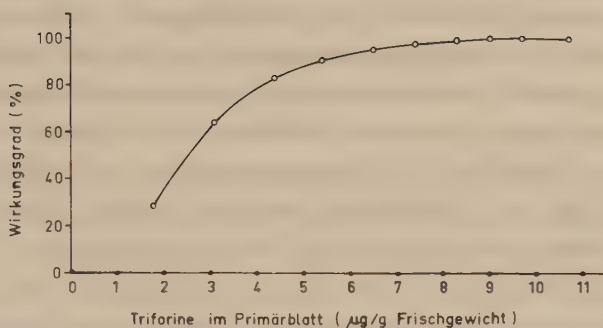


Abb. 16: Beziehung zwischen der Konzentration von Triforine im Primärblatt von Weizenpflanzen 1 und 6 Tage nach einer Wurzelbehandlung und dem Wirkungsgrad des Fungizides gegen Braunrostbefall.

C. Diskussion der Ergebnisse: Braunrost

Nach wie vor ist für die Wirksamkeit auch eines systemischen Fungizids eine Kenntnis darüber wichtig, ob das Präparat in der Lage ist, die Keimung der Sporen zu unterbinden. Entsprechenden Tests stellen sich bei den Rosten große technische Schwierigkeiten deshalb entgegen, da die Sporen zumindest in vitro keimhemmende Stoffe ausscheiden

(ALLEN 1955, YARWOOD 1956, FRENCH 1961, SYAMANANDA und STAPLES 1961, BELL und DALY 1962 u. a.). Bei Puccinia helianthi und P. an-tirrhini identifizierten MACKO et al. (1971) den keimhemmenden Stoff als Methyl-3,4-dimethoxy cinnamat. Zwar gelang es vielen Forschern (STROEDE 1933, SCHIPPER et al. 1969 u. a.), Uredosporen unter bestimmten Bedingungen in vitro zur Keimung anzuregen; solche Erfolge setzten jedoch eine gewisse Vorbehandlung der Sporen voraus. Da sowohl MARSCH (1936) als auch HOWARD (1939) keine Unterschiede im Keimungsprozentsatz von Rostsporen auf Blättern bzw. auf Objektträgern feststellen konnten, wurden entsprechende Prüfungen in der vorliegenden Arbeit ausschließlich zur Sporenkeimung auf Blättern durchgeführt. Dies hat zudem den Vorteil, daß unter weitgehend natürlichen Bedingungen gearbeitet werden kann; auch ist ein direkter Vergleich zwischen Ausmaß von Sporenkeimung und Rostbefall möglich.

Die entsprechenden Ergebnisse sind recht interessant. Wie aus Tab. 1 hervorgeht, keimten rund 63% der Sporen dann aus, wenn das Fungizid in einer Konzentration von rund 250 ppm 20 Stunden vor der Infektion auf die Blätter appliziert wurde. Betrachtet man die Resultate aus Tab. 2, so erkennt man, daß eine gleichartige Behandlung der Pflanzen fünf Tage vor der Inokulation die Entwicklung des Braunrosts praktisch völlig zu unterdrücken vermochte! Dieses Ergebnis dürfte dahingehend zu interpretieren sein, daß das Fungizid nach der Spritzung zum weitaus größten Teil von den Pflanzen aufgenommen wurde und daher seine Wirksamkeit vorwiegend in und nicht auf den Blättern entfalten konnte. Die therapeutische Wirkung von Triforine nach Blattbehandlung spricht auch sehr stark dafür, daß dieses Systemika in das Blatt eindringt (vgl. Abb. 3). Wurde Triforine 20 Stunden vor der Inokulation in einer Konzentration von 1000 ppm über die Wurzeln angewendet (Tab. 1), so keimten 57% der auf die Blätter gesprühten Uredosporen. Dagegen kam es kaum zur Pustelbildung, wenn bereits fünf Tage vor

der Inokulation eine gleichartige Behandlung der Pflanzen erfolgt war. Immerhin ist hier überraschend, daß es nach Wurzelapplikation überhaupt zu einer Beeinflussung der Sporenkeimung auf den Blättern kam: Offenbar vermag die Pflanze einen Teil des Wirkstoffes durch die Blätter wieder auszuscheiden. Insgesamt belegen diese Ergebnisse aber die Tatsache, daß Triforine vorrangig als ein systemisches, innerhalb der Pflanze wirksames Fungizid anzusehen ist; seine im Sinne herkömmlicher Fungizide protektive Wirkung ist vergleichsweise gering.

Man kann für die Wirkungsweise eines systemischen Fungizids theoretisch annehmen, daß es die Entwicklung eines Pilzes direkt oder aber indirekt über eine Beeinflussung des Wirtsstoffwechsels - etwa durch eine Änderung seiner Resistenzeigenschaften - zu blockieren vermag. Für Triforine ist in erster Linie eine direkte fungizide Wirkung anzunehmen, da die Substanz in der Lage ist, die Keimung der Sporen zu unterbinden. Welcher Art der Wirkungsmechanismus aber ist, steht bislang völlig dahin. Wohl kann man annehmen, daß nach den Arbeiten einer ganzen Reihe von Autoren die meisten, wenn nicht alle systemischen Fungizide spezifische Biosynthesewege der Parasiten hemmen, weitaus weniger dagegen eine Wirkung über den Energiestoffwechsel gegeben ist (ROBINSON et al. 1964, HOCK and SISLER 1969 u. a.). Diese Ansicht vertritt auch KAARS SJPESTEIJN (1970): "One arrives here at the remarkable conclusion that grosso modo fungicides which inhibit energy production do not include true systemic fungicides. On the other hand the fungicides acting on biosynthesis are true systemic fungicides". Triforine dürfte hier keine Ausnahme bilden.

Die Frage nach der gegenüber Braunrost wirksamen Aufwandmenge von Triforine kann nicht eindeutig beantwortet werden. Sie ist von vielen Faktoren abhängig, vor allem vom Anwendungszeitpunkt relativ zum Infektionstermin. Dann kommt es darauf an, ob das Fungizid über die Blätter oder über die Wurzeln appliziert wird. Nicht zuletzt hängt die Aufwandmenge auch davon ab, was man unter den Begriff "wirksam"

für ein Fungizid versteht. Nach MÜLLER (1968) sind "als wirksame Verbindungen" nur diejenigen zu bezeichnen, die im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle die Erkrankung der Pflanze mindestens um 75% mindern. Nach dieser Definition liegt die wirksame Konzentration von Triforine unter den in dieser Arbeit gewählten Versuchsbedingungen für die Blattbehandlung bei 250 ppm. Um den Rostbefall auf 0% herabzusetzen, reicht bei Blattbehandlung eine Konzentration von 500 ppm oder weniger aus. In dem Versuch mit über die Wurzel appliziertem, markiertem Fungizid wurde festgestellt, daß zur Erreichung eines 75%igen Wirkungsgrades eine tatsächliche Konzentration von 4 µg/g Frischgewicht im Weizenblatt genügt; zur totalen Eliminierung des Erregers sind dagegen 9 µg/g notwendig.

Als weitere Faktoren, welche die wirksame Dosis gegen den Braunrost des Weizens beeinflussen können, sind ökologische Bedingungen und Auswertungstermin (Zeit nach der Inokulation) zu nennen. Diese Faktoren wurden in den geschilderten Versuchen jedoch weitgehend konstant gehalten. Jedes Experiment wurde mehrmals ausgewertet, die entsprechenden Angaben zum Braunrostbefall entstammen der letzten Auswertung, nach der keine Befallssteigerung mehr festgestellt werden konnte.

Im allgemeinen war bei vergleichbaren Aufwandmengen (Konzentration der Fungizidsuspension) eine Blattbehandlung sowohl protektiv als auch kurativ wirksamer als eine Wurzelbehandlung (c.f. SCHICKE und VEEN 1969). Ausschlaggebend für den Erfolg ist jedoch nicht die angebotene Substanzmenge, sondern die Menge des Fungizids, welche den Wirkungsort, also das Weizenblatt, auch tatsächlich erreicht. In diesem Zusammenhang muß allerdings erwähnt werden, daß die hier als "protektiv" angesprochene Wirksamkeit von der herkömmlicher Fungizide insofern abweicht, als Triforine sowohl auf der Pflanzenoberfläche wie auch im Wirtsgewebe seine "Schutz"-Wirkung ausüben kann. Bei postinfektionellem Einsatz des Fungizids ist der kurative Effekt - bei einer Anwendungskonzentration von 500 ppm - auf einen Zeitraum von

4 bis 5 Tagen nach der Inokulation beschränkt, spätere Applikation ist weitgehend ergebnislos. Dieses Resultat sollte aber nicht verallgemeinert, sondern stets im Zusammenhang mit der hier untersuchten Krankheit gesehen werden: Triforine ist durchaus in der Lage, Puccinia recondita f. sp. tritici auf chemotherapeutischem Wege zu treffen, solange es innerhalb der - unter unseren Bedingungen relativ kurzen - Inkubationszeit eingesetzt wird, bevor jene orangefarbenen Flecken gebildet werden, die dem Hervorbrechen der Uredolager unmittelbar vorausgehen. Umgekehrt ist der Wirkungszeitraum bei präinfektioneller Anwendung länger: bei einer Konzentration der Fungizidsuspension von 125 bzw. 500 ppm waren die Pflanzen gegenüber einer nachfolgenden Infektion für 9 bzw. 12 Tage ausreichend geschützt.

Offen ist zur Zeit noch die Frage, warum Triforine nicht in der Lage ist, die Braunrostentwicklung zu unterdrücken, wenn das geschilderte Stadium der orangefarbenen Flecken während der Pathogenese erreicht ist. LOWELL et al. (1967) fanden eine Zunahme des RNS-Gehaltes in braunrost-infizierten Weizenblättern, die ihren Höhepunkt 6 Tage nach der Inokulation erreichte (vgl. auch HEITTEFUSS 1966). SHAW und seine Mitarbeiter (SHAW 1963; QUICK und SHAW 1964, u. a.) vermuten, daß der höhere RNS-Gehalt auf eine Synthese seitens des Wirtes und nicht seitens des Pilzes zurückzuführen ist. Die letztgenannten Autoren nehmen daher auch an, daß der Parasit den Wirt zum Aufbau jener RNS und gegebenenfalls auch jener Proteine veranlaßt, die er für seinen eigenen Stoffwechsel benötigt. REISNER (1968) stellte fest, daß Puccinia graminis Aminosäuren und auch Glucose direkt aus dem infizierten Weizenblatt aufnehmen kann. Es ist bemerkenswert, daß der Parasit von Triforine dann nicht mehr erfaßt werden kann, wenn die RNS-Synthese im Wirt am größten ist. Sowohl BHATTACHARYA (1965) als auch viele andere Forscher glauben, daß die parasitär induzierte Änderung im RNS-Stoffwechsel der Getreidepflanze grundlegend für das Wirt-Parasit-Verhältnis bei Rostpilzen ist. Es liegt nahe, anzunehmen, daß während der Inkuba-

tionszeit schrittweise eine so enge Verflechtung des Pilzstoffwechsels mit dem seines Wirtes stattfindet, daß von einem bestimmten Stadium der Pathogenese an - der geschilderten Bildung orangefarbener Flecken als Vorläufer der Entwicklung von Uredolagern - Triforine Puccinia recondita nicht mehr entscheidend treffen kann.

Aus den Ergebnissen der entsprechenden Versuche kann man schließen, daß sich Triforine nicht für eine Saatgutbehandlung zur Bekämpfung des Weizenbraunrostes eignet. Selbst bei der extrem hohen Aufwandmenge von 8000 g/100 kg Saatgut; die nur bei Inkrustierung möglich war, konnte der Rostbefall lediglich um rund 60% gedrückt werden. Hier muß außerdem berücksichtigt werden, daß bei dem verwendeten Inkrustierungsverfahren nur 58% des eingesetzten Beizpulvers (bei 8000g/100kg Saatgut) an den Körnern hafteten, eine weitere Erhöhung des Präparateaufwandes also nicht gerechtfertigt wäre (vgl. Tab. 8); dieser erreicht bereits bei 2000g/100kg Saatgut seine unter praktischen Bedingungen vertretbare Obergrenze. In diesem Zusammenhang muß man auch bedenken, daß Applikation größerer Fungizidmengen phytotoxische Schäden nach sich ziehen kann.

Tabelle 8: Inkrustierung von Weizenkörnern mit Triforine (Beizpulver):
Beziehung zwischen Beizpulverangebot und Menge haftenden Beizpulvers.

Aufwand an Beizpulver (g Wirkstoff/ 100 kg Weizen)	An 50 g Weizenkörnern haftende Wirkstoffmenge	
	in g	in %
1000	0,50	100
2000	1,00	100
4000	1,52	72
8000	2,32	58

Vielversprechend dagegen erscheint nach den in Tab. 5 dargestellten Ergebnissen eine Verwendung von Triforine als Bodenfungizid: Durch Einmischen von 1 g Suspensionspulver je kg Erde war es unter den Versuchsbedingungen möglich, den Rostbefall völlig zu unterdrücken. Hinzu kommt, daß die Wirkung von 55 Tage hinweg erhalten blieb. Zwar zeigten sich gewisse phytotoxische Schäden; in dieser Arbeit nicht besprochene Tastergebnisse lassen aber erwarten, daß mit niedrigeren Aufwandmengen gleich gute Ergebnisse erzielt werden können.

Die Wirksamkeit von Triforine als Bodenfungizid ist offenbar in hohem Maße von der Art seiner Formulierung abhängig: Während die geschilderten positiven Resultate mit Suspensionspulver erzielt wurden, war das Fungizid in der Formulierung WF 114 relativ ineffektiv (Tab. 5). Da letztere ein Emulsionskonzentrat darstellt, unterlag der Wirkstoff hier möglicherweise einem schnelleren mikrobiellen Abbau.

Sowohl mit radioaktiv markiertem als auch mit nicht markiertem Triforine konnte nachgewiesen werden, daß der Wirkstoff zumindest akropetal systemisch in Weizenpflanzen transportiert wird. Aus den Angaben von OST et al. (1971) könnte man auch auf einen basipetalen Transport in Gerste schließen. Die eigenen Ergebnisse bestätigen diesen Hinweis nicht in vollem Umfang. Offenbar ist es aber doch möglich, daß das Fungizid in begrenztem Umfang in Blättern abwärts geleitet wird. Hierzu sind noch detailliertere Untersuchungen anzustellen, zumal dieser Frage ein eminentes praktisches Interesse beizumessen ist. Durch Kombination der Fähigkeit zu akro- und basipetalem Transport ist eine gleichmäßige Verteilung in der Pflanze viel eher gewährleistet als bei den bisher bekannten, meist nur akropetal geleiteten systemischen Fungiziden. Gerade in ihrem Wachstum bereits fortgeschrittenere Getreidepflanzen können beim Spritzen eines geschlossenen Bestandes nur schwer auf den tiefer gelegenen Sproßteilen getroffen werden; ein basipetal transportierbares Fungizid wäre hier sehr wünschenswert.

Triforine vermag auch solche Gewebe vor Braunrostbefall wirkungsvoll zu schützen, die erst nach der Fungizidapplikation gebildet werden. Das ist etwa dann der Fall, wenn ein Blatt 10 Tage vor der Inokulation mit dem Fungizid behandelt wird: Die zur Spitze hin inzwischen neu zugewachsenen Blatteile zeigen keine Bildung von Uredolagern. Dagegen können andere Blätter, die sich erst zwischen Applikation und Infektion neu entwickeln, nicht durch das Triforine erfaßt werden: Hierfür wäre ein basi- und akropetaler Transport des Wirkstoffes Voraussetzung. Offenbar reichen aber die Möglichkeiten zu seiner Abwärtsleitung in diesem Fall nicht aus. Damit wäre es bei praktischem Einsatz auch bei diesem systemischen Fungizid notwendig, die wachsenden Weizenpflanzen gegen Braunrostbefall mehrmals zu spritzen.

Der Einfluß der Temperatur auf die Aufnahme von Triforine durch das Weizenblatt war gering (Abb. 8). Allerdings muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß der Versuch im Dunkeln verlief, da die für diesen Versuch verwendeten Thermostaten nicht mit Belichtungseinrichtungen ausgerüstet waren. Da im Dunkeln die Spaltöffnungen geschlossen sind, dürfte die Aufnahme von Triforine vor allem über die Epidermis erfolgt sein. Der Einfluß der Temperatur auf das Öffnen und Schließen der Stomata kam in unserem Versuch wohl nicht zur Geltung.

Insgesamt kann dem Triforine eine sehr gute Wirkung gegen Weizenbraunrost unter Laborbedingungen zugeschrieben werden. Selbst bei Aufwandmengen, die zu niedrig waren, um die Krankheit völlig auszuschalten, wurde der Krankheitsverlauf durch das Fungizid stets verzögert; die orangefarbenen Flecken und die Uredolager entwickelten sich später als bei den Kontrollpflanzen. Oft waren die entwickelten Pusteln deutlich kleiner als bei den unbehandelten Pflanzen; manchmal unterblieb auch die Weiterentwicklung des Stadiums der orangefarbenen Flecken zu Pusteln.

Der interessante Befund, daß bereits die Blindformulierung von WF 114 einen deutlichen Effekt gegen den Weizenbraunrost aufwies, deutet aller-

dings daraufhin, daß die gute Wirkung von WF 114 gegen den Pilz nicht allein auf den fungiziden Wirkstoff, sondern auch auf andere Substanzen des Präparates zurückzuführen ist.

Triforine wird von Pflanzen der Weizensorte "Jubilar" sehr gut vertragen. Selbst bei Spritzung von Suspensionen mit 1600 ppm Wirkstoffkonzentration, die weit über der wirksamen Mindestdosis liegt, konnten nur geringfügige, phytotoxische Erscheinungen festgestellt werden. Triforine hat daher einen recht günstigen chemotherapeutischen Index (Verhältnis von dosis curativa zu dosis tolerata). Da das Fungizid ferner eine gute Regenbeständigkeit aufweist (SCHICKE 1969), besitzt es Eigenschaften, die seinen Einsatz unter Freilandbedingungen in der Praxis durchaus vielversprechend erscheinen lassen.

III. VERSUCHE MIT WELKEKRANKHEITEN DER TOMATE

Die bisher in dieser Arbeit geschilderten Versuche haben klar gezeigt, daß sich das Fungizid Triforine auf Grund seiner guten chemotherapeutischen und systemischen Eigenschaften für die Bekämpfung von Weizenbraunrost eignet. Am Beispiel dieser Krankheit wurden modellartig Details über seine biologische Wirksamkeit erarbeitet.

Darüber hinaus aber wurde auch eine Reihe von Versuchen zum fungiziden Effekt von Triforine gegenüber zwei Erregern von Welkekrankheiten der Tomate, Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici und Verticillium albo-atrum, durchgeführt. Hierfür wurden die Triforine-Formulierung - G 144 (Emulsionskonzentrat mit 10% Wirkstoffanteil) - und der reine Wirkstoff ("Charge T3/70") verwendet. Über diese Arbeiten wird im folgenden berichtet. Im Vordergrund des Interesses standen hier zunächst Wachstumsversuche in vitro, zumal solche Experimente mit dem obligaten Parasiten Puccinia recondita f. sp. tritici nicht möglich sind.

A. Versuche in vitro

a. Material und Methoden

Der verwendete Fusarium-Stamm wurde ursprünglich unter der Bezeichnung ETH 5412 aus dem Institut für spezielle Botanik der ETH Zürich erhalten; Verticillium (isoliert aus Tomaten) stammte aus dem Imperial College (Botany Department), London ⁺).

Für Wachstumsversuche auf Agarnährböden in Petrischalen nach dem etwas abgewandelten Verfahren von BRANCATO und GOLDING (1953) wurde die Formulierung G 144 von Triforine verwendet. Czapek-Dox-Nährmedium (mit 2% Agar) wurde zunächst bei 130°C und 2 atü Druck für 20 Minuten autoklaviert. Um eine eventuelle Zersetzung zu vermeiden, wurde Triforine nicht mit autoklaviert. Nach dem Abkühlen auf etwa 40°C wurde die gewünschte Menge des Präparates zugefügt und ein pH-Wert von 5,3 durch Zusatz von NaOH eingestellt; jedes Versuchsglied bestand aus 8 Petrischalen mit jeweils 15 ml Medium. Zur Kontrolle diente der gleiche Nährboden ohne Zusatz von Triforine. Die Beimpfung erfolgte in der üblichen Weise durch Übertragung von Impfstückchen (6 mm Durchmesser) aus einer Ausgangskultur. Während des Versuchs standen die Petrischalen in einem Thermostat, Fusarium bei 27°C, Verticillium bei 20°C. Während der Gesamtdauer der Experimente wurde der lineare Myzelzuwachs in zeitlichen Abständen laufend gemessen.

Zur Ermittlung der Wachstumsleistung in flüssigem Nährsubstrat wurde eine Nährlösung nach Czapek-Dox zunächst autoklaviert und die gewünschte Menge Triforine (G 144) erst danach zugesetzt. Die Versuche wurden in 300 ml-Erlenmeyerkolben mit jeweils 100 ml Nährlösung bei pH 5,3 durchgeführt;

⁺) Für die Überlassung von Plattenkulturen dieser beiden Pilze sei Herrn Dr. H. Buchenauer, jetzt Lehrstuhl für Phytopathologie und Pflanzenschutz der Universität Hohenheim, herzlich gedankt.

je Versuchsglied wurden 8 Wiederholungen verwendet. Bei der Inokulation mit Impfstückchen war es wichtig, daß diese möglichst auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwammen; die Luftmyzel tragende Seite wies nach oben. Während der Versuchsdauer standen die Fusarium - Kulturen bei 27⁰, solche von Verticillium bei 20⁰ in einem Thermostat. Die Kolben wurden zur besseren Verteilung des Fungizids im Abstand von jeweils zwei Tagen geschüttelt. Das Myzeltrockengewicht wurde nach Filtration und Trocknung bei 110⁰C bis zur Gewichtskonstanz bestimmt und von dem erhaltenen Wert das Trockengewicht der Impfstückchen subtrahiert.

Da sich im Laufe der Versuche zeigte, daß auch die Blindformulierung des verwendeten Präparates (G 144) das Pilzwachstum hemmt, wurde in gesonderten Experimenten der Einfluß des reinen Wirkstoffs und der Blindformulierung getrennt geprüft.

Zum Ansetzen verschiedener Konzentrationen des schwerlöslichen, reinen Triforine wurde die Substanz in einem Mörser fein zerrieben, danach eine 1%ige Stammsuspension mit flüssigem Czapek-Agarmedium bei 60⁰C hergestellt und schließlich von dieser ausgehend je nach Versuchsglied entsprechende Verdünnungen mit dem gleichen Substrat vorgenommen. Eine Entmischung wurde durch kontinuierliches Rühren auf einem Mixomat vermieden. Nach Einstellung des pH-Wertes auf 5,3 wurden jeweils 10 ml je Petrischale ausgegossen. In gleicher Weise wurde auch mit dem Fertigpräparat (G 144) bzw. der Blindformulierung verfahren; da es sich hier um Flüssigkeiten handelt, erübrigte sich allerdings das für den reinen Wirkstoff notwendige Zerkleinern im Mörser. Die Beimpfung mit einem der beiden Versuchspilze, Inkubation in Thermostaten und Auswertung erfolgten wie bereits geschildert.

b. Ergebnisse

1. Einfluß von Triforine (G 144) auf das Myzelwachstum

Die Auswertung erfolgte für Fusarium und Verticillium 6 bzw. 12

Tage nach der Impfung, wobei zunächst der Durchmesser der Pilzkolonie gemessen und nach Subtraktion des Impfstückdurchmessers der erhaltene Wert halbiert wurde, um ein Maß für den tatsächlichen linearen Myzelzuwachs während der angegebenen Zeit zu erhalten.

Bei beiden Pilzen hemmte Triforine (G 144) das Wachstum bereits bei einer Konzentration von 125 ppm erheblich; eine weitere Steigerung der Fungizidmenge hatte darüber hinaus nur einen geringen Einfluß und selbst bei einer Wirkstoffkonzentration von 1000 ppm konnte das Wachstum nicht völlig blockiert werden (Tab. 9). Wichtig ist der Befund, daß das Präparat nicht fungizid, sondern nur fungistatisch wirkte; beide Pilze wurden unter dem Einfluß der Triforine-Formulierung G 144 nicht abgetötet.

Tabelle 9: Einfluß von Triforine (G 144) auf das Myzelwachstum von Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici und Verticillium albo-atrum auf Agarmedium in Petrischalen (Kulturdauer 6 bzw. 12 Tage).

Wirkstoffkonzentration in ppm	Myzelzuwachs (mm)	
	<u>Fusarium</u>	<u>Verticillium</u>
0	35,0	20,5
125	11,5	8,5
250	10,5	5,5
500	9,5	4,0
1000	9,0	3,0
GD _{5%}	0,4	0,3
GD _{1%}	0,6	0,4
GD _{0,1%}	0,8	0,5

Die zwei Organismen zeigten allerdings erhebliche Veränderungen im Habitus. So fehlte z. B. die für Fusarium typische weiße und watteartige Kolonieoberfläche und bei Verticillium die lederartige Konsistenz des Myzels. Statt dessen sahen die Pilze schleimig und bräunlich aus. Die Bildung von Luftmyzel blieb aus (siehe Abb. 17). In der Folge wurde 10 Tage nach Versuchsbeginn, nachdem die beschriebenen Veränderungen bereits eingetreten waren, eine Überimpfung von jeder Konzentrationsstufe auf einen Czapek - Dox - Agar - Nährboden ohne Triforine vorgenommen. Alle Tochterkolonien entwickelten sich nach Aussehen und Wuchsleistung normal.

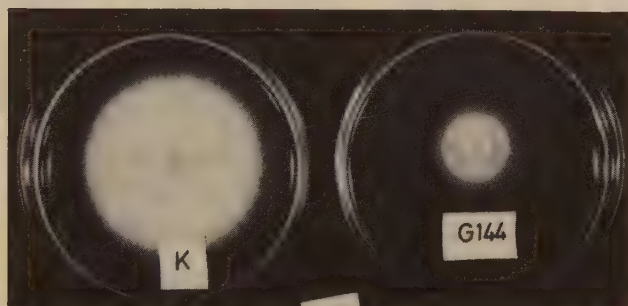


Abb. 17: Habitusveränderungen der Kolonieoberfläche von Verticillium albo-atrum bei Kultur auf einem Czapek-Dox-Agarmedium unter Zusatz von Triforine (G 144).

(K = unbehandelte Kontrolle; G 144 = behandelt mit 100 ppm Triforine).

Entsprechende Wachstumsversuche in flüssigem Substrat führten zu grundsätzlich anderen Ergebnissen (Tab. 10). Nach einer Kulturdauer von 41 Tagen hatte bei Fusarium der Zusatz von Triforine zur Nähr-

lösung keinen Einfluß auf die Wachstumsleistung. Bei Verticillium ergab sich ein davon erheblich abweichendes Bild: Bei einer Konzentration von 125 bzw. 1000 ppm hemmte das Präparat die Pilzentwicklung erheblich, bei Zwischenwerten (250 bzw. 500 ppm) dagegen in geringerem Maße.

Tabelle 10: Einfluß von Triforine (G 144) auf das Myzelwachstum von Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici und Verticillium albo-atrum in Nährlösung (Kulturdauer 41 bzw. 44 Tage).

Wirkstoffkonzentration in ppm	Myzeltrockengewicht (mg)	
	<u>Fusarium</u>	<u>Verticillium</u>
0	131,9	215,2
125	116,4	91,8
250	134,4	137,7
500	128,5	143,0
1000	130,4	54,0
GD _{5%}	15,7	23,1
GD _{1%}	21,2	32,6
GD _{0,1%}	28,3	43,2

Ähnlich wie bei dem zuvor geschilderten Experiment konnten auch hier Veränderungen im Habitus usw. beobachtet werden. Bei Fehlen von Triforine in der Nährlösung produzierte Fusarium einen violetten Farb-

stoff, der in die Flüssigkeit ausgeschieden wurde. Bei Zusatz des Fungizids blieb die Farbstoffbildung aus. Dem äußeren Anschein nach war bei diesem Pilz das Myzelwachstum in der Kontrolle üppiger, obwohl das Myzeltrockengewicht keine wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgliedern aufwies. Verticillium bildete unter dem Einfluß des Fungizids einen schmutziggrünen bis dunkelgrauen Farbstoff, der in Kolben ohne Zusatz von Triforine nicht zu beobachten war. Auch hier veränderte sich bei Gegenwart des Präparates in der Nährlösung der Habitus des Myzels.

2. Einfluß des reinen Wirkstoffs sowie einer Blindformulierung auf das Myzelwachstum

In den bereits geschilderten Versuchen mit Weizenbraunrost hatte sich gezeigt, daß schon die Blindformulierung des Präparates WF 114 eine Wirkung auf die Pathogenese der Krankheit ausüben kann. Es erschien daher angebracht, in vitro den Einfluß des reinen Wirkstoffes, der Formulierung G 144 und der entsprechenden Blindformulierung auf das Wachstum von Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici und Verticillium albo-atrum zu prüfen. Die Ergebnisse entsprechender Petrischalentests sind in den Abb. 18 und 19 wiedergegeben. Die in der Abszisse abgetragenen Konzentrationsangaben beziehen sich auf die jeweilige Aufwandmenge des Wirkstoffs, für die Blindformulierung entspricht die Konzentration jener des Fertigpräparates.

Fusarium wird durch den reinen Wirkstoff stark, aber nicht total in seiner Entwicklung gehemmt. (Abb. 18). Sehr überraschend ist die Tatsache, daß der negative Einfluß der Blindformulierung auf das Pilzwachstum viel ausgeprägter ist als der des reinen Triforine. Entsprechend ist der hemmende Effekt des Fertigpräparates (G 144) eher dem der Blindformulierung als dem der Reinsubstanz vergleichbar. Mit geringfügigen Abweichungen treffen diese Aussagen auch für Verticillium albo-atrum zu.

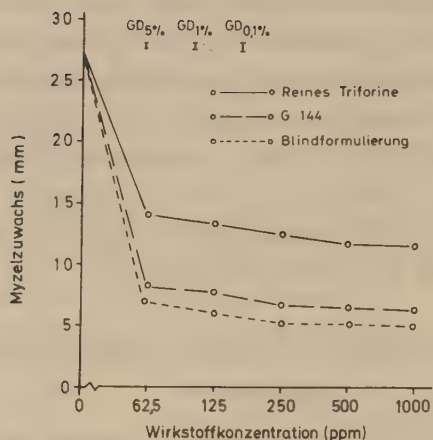


Abb. 18: Einfluß des reinen Wirkstoffes Triforine, des Emulsionskonzentrates G 144 und der entsprechenden Blindformulierung auf das Myzelwachstum von Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici auf Czapek-Dox-Agarmedium (Kulturdauer bis zur Messung 5 Tage bei 27°C).

Während sich das äußere Bild der Kolonien bei Gegenwart von reinem Wirkstoff im Nährmedium nicht veränderte, rief die Blindformulierung und entsprechend auch das Emulsionskonzentrat G 144 eine deutliche Habitusänderung bei beiden Pilzen hervor. Für Fusarium ist diese in Abb. 20 im Bild dargestellt: Die Luftmyzelbildung ist geringer, die Ausfärbung der Kolonie von weiß nach grau-braun verschoben.

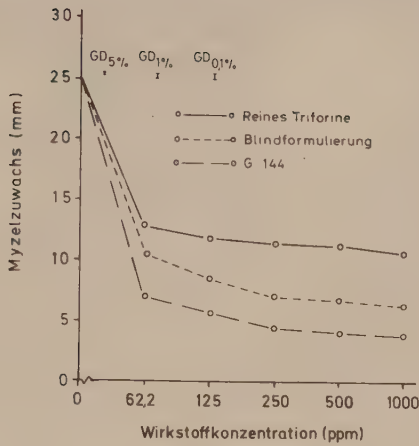


Abb. 19: Einfluß des reinen Wirkstoffes Triforine, des Emulsionskonzentrates G 144 und der entsprechenden Blindformulierung auf das Myzelwachstum von Verticillium albo-atrum auf Czapek-Dox-Agarmedien (Kulturdauer bis zur Messung 14 Tage bei 20°C).

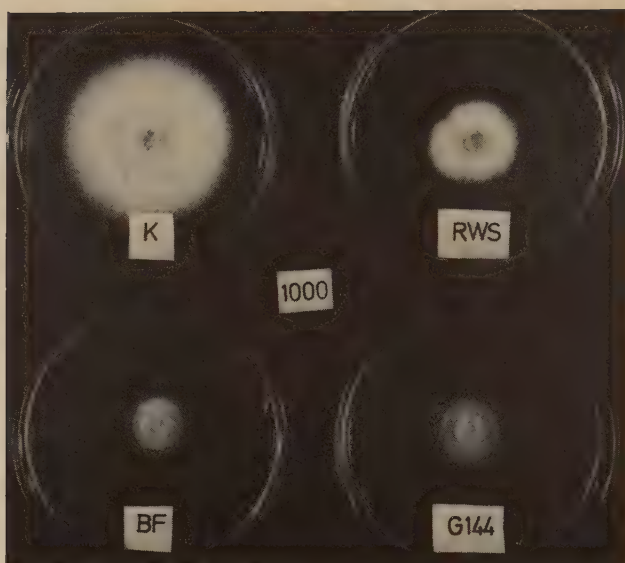


Abb. 20: Habitus der Myzelkolonien von Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici bei Gegenwart von Triforine (reiner Wirkstoff = RWS: 1000 ppm), des Emulsionskonzentrates G 144 bzw. der entsprechenden Blindformulierung (BF) im Agarmedium. K = Kontrolle ohne Zusatz eines der drei Präparate.

B. Versuche in vivo

a. Material und Methoden

Als Wirtspflanzen dienten Tomaten der Sorte "Bonny Best". Alle Versuche zum Einfluß von Triforine auf die durch Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici und Verticillium albo-atrum hervorgerufenen Welkekrankheiten wurden in einem durch Heizung bzw. Lüftung thermostatisch regulierbaren Gewächshaus durchgeführt. Nach Inokulation mit Fusarium wurde eine Temperatur von 27⁰ C, nach Inokulation mit Verticillium eine solche von 20⁰ C angestrebt; gewisse Temperatur-

schwankungen waren allerdings nicht vermeidbar. Die durchschnittliche Luftfeuchtigkeit im Gewächshaus lag im allgemeinen um 50%, aber unmittelbar nach der Inokulation mit einem der beiden Pilze wurde für drei Tage durch Berieseln des Gewächshausbodens eine möglichst hohe Luftfeuchtigkeit hergestellt.

1. Anzucht der Tomatenpflanzen

14 Tage nach der Aussaat in ein gedämpftes Sand/Gartenerde-Gemisch (1:2) wurden die jungen Pflanzen pikiert und nach weiteren zwei Wochen einzeln in 8 cm-Plastiktöpfe umgepflanzt, die mit sterilem Sand (250 g je Topf) gefüllt waren. Bei der weiteren Kultur erfolgte die Bewässerung täglich einmal mit 50 ml einer Nährlösung nach HOAGLAND.

Zusammensetzung der Nährlösung:

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	1,182 g
KNO_3	0,506 g
KH_2PO_4	0,136 g
MgSO_4	0,246 g
Ferrichlorid-Lösung (0,5%)	1 ml
Spurenelement-Lösung (s. unten)	1 ml
aqua dest.	ad 1000 ml

Zusammensetzung der Spurenelement-Lösung

$\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	7,0 g
H_3BO_3	11,0 g
ZnSO_4	1,0 g
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	1,0 g
FeSO_4	Spuren
aqua dest.	ad 18 l

An heißen Tagen wurden die Pflanzen zusätzlich mit aqua dest. begossen.

2. Inokulation der Pflanzen

Für die Inokulation der Tomatenpflanzen wurde eine Myzel- und Sporensuspension verwendet, die in folgender Weise hergestellt wurde: Nach Anzucht von Fusarium und Verticillium in jeweils 70 ml einer Czapek-Dox-Nährlösung nach MÜLLER und MELCHINGER (1964) in 300 ml Erlenmeyerkolben bei 27⁰ bzw. 20⁰C während zwei bis drei Wochen wurde das Myzel einschließlich der Sporen mit Hilfe eines Stabmixers ("Ultraturrax") für ca. eine Minute homogenisiert und die Suspension mit Leitungswasser verdünnt. Dabei kam im Durchschnitt eine Myzelmatte auf 400 ml Wasser.

Für den Inokulationsvorgang selbst wurden die Pflanzen den Töpfen entnommen, durch Waschen von anhaftenden Sandteilchen befreit und nach geringfügigem Einkürzen der Wurzel für eine Stunde in die Myzelsuspension gestellt. Danach kam jede Pflanze in einen 10 cm-Plastiktopf mit 450 g Flußsand. Jedes Versuchsglied bestand aus jeweils 5 bzw. 6 Wiederholungen.

3. Fungizidapplikation

Fungizidbehandlungen erfolgten prä- oder postinfektionell entweder durch Blatt- oder durch Wurzelapplikation. Die Blattbehandlung wurde mit einem Zerstäuber vorgenommen. Vor dem Besprühen wurde die Sandoberfläche mit Cellophan abgedeckt und die Töpfe außerdem umgekippt, um zu vermeiden, daß das Fungizid direkt an die Wurzeln gelangte. Die Pflanzen wurden etwa 25 cm von der Spritzdüse entfernt gehalten und nach dem Sprühen ca. 25 Minuten lang schräg liegen gelassen, um einen Rückfluß in den Topf zu verhindern.

Applikation über die Wurzeln erfolgte durch gleichmäßiges Aufpipetieren der Fungizidsuspension auf die Topfoberfläche. Durchsickernde Flüssigkeit wurde aufgefangen und wieder in den Topf zurückgegossen. Nach der Zugabe von Nährlösung bzw. Wasser zu den Pflanzen wurde stets in gleicher Weise verfahren.

4. Versuchsauswertungen

Zur Auswertung wurden die infizierten Pflanzen auf ihre Welkesymptome und anschließend auf den Grad der Gefäßverbräunung in den Stengeln untersucht (DIMOND et al. 1952; GROSSMANN 1962a). Der Klassifizierung der Blattsymptome diente folgendes Schema:

- 0 = Blätter völlig gesund
- 1 = Epinastie und/oder weniger als 10 % der Blattfläche vergilbt.
- 2 = bis 50% der Blattfläche vergilbt und/oder erschlafft.
- 3 = mehr als 50% der Blattfläche vergilbt und/oder erschlafft.
- 4 = Blatt vollständig vertrocknet oder abgefallen.

Nach der Einzelbewertung der Blätter wurde für jede Pflanze ein Welke-Index berechnet:

$$\text{Welke-Index} = \frac{\sum x}{4n} \cdot 100$$

- wobei $\sum x$ = Summe der einzelnen Benotungen
 n = Zahl der Blätter einer Pflanze
4 = höchste Boniturstufe

Zur Auswertung der Gefäßbräunung wurden die Stengel in jedem Internodium einmal durchgeschnitten und auf die Bräunung der drei Hauptgefäßbündel nach folgender Skala beurteilt:

- 0 = keines der 3 Gefäßbündel verbräunt
- 1 = ein Gefäßbündel verbräunt
- 2 = zwei Gefäßbündel verbräunt
- 3 = alle drei Gefäßbündel verbräunt

Aus den Einzelwerten ergab sich dann ein

$$\text{Gefäßbräunungsindex} = \frac{\sum x}{3n} \cdot 100$$

- wobei $\sum x$ = Summe der Gefäßbündelbonituren/Pflanze
 n = Zahl der durchgeschnittenen Internodien/Pflanze
3 = höchste Boniturstufe

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte wie in den Braunrost-Versuchen.

b. Ergebnisse

1. Wirkung von Triforine (G 144) auf Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici

In einem größeren Versuch wurde vergleichend die protektive und die kurative Wirksamkeit von Triforine (G 144) gegenüber der Entwicklung von Fusarium auf Tomaten untersucht. Entsprechend erfolgte einerseits eine Behandlung der Pflanzen prä infektionell über Blatt- bzw. Wurzelapplikation 3 oder 10 Tage vor der Inokulation, umgekehrt in gleicher Weise eine Anwendung des Präparates 3 bzw. 10 Tage nach der Inokulation. In zwei weiteren Versuchsgliedern wurde das Fungizid 10 und 3 Tage vor und 3 Tage nach der Inokulation über die Blätter bzw. über die Wurzeln den Pflanzen zugeführt. Zum Vergleich dienten zwei Gruppen von unbehandelten Kontrollpflanzen, die in einem Fall inokuliert, im anderen Fall nicht inokuliert waren. Jedes Versuchsglied bestand aus 5 Wiederholungen. 38 Tage nach der Aussaat (Pflanzen durchschnittlich im 7-Blattstadium) erfolgte die Inokulation, nach weiteren 18 und 30 Tagen die Bewertung der Welkesymptome und zum letztgenannten Termin auch die Ermittlung der Gefäßbräunung. Die Ergebnisse des Versuches sind in Abb. 21 dargestellt.

Bei der ersten Auswertung (18 Tage nach der Inokulation) zeigte Triforine eine gewisse Wirkung gegen die Fusarium-Welke, wobei die Wurzelapplikation der Blattapplikation deutlich überlegen war. Nach präinfektioneller Wurzelbehandlung war bei allen Aufwandmengen der Krankheitsgrad gegenüber den entsprechenden Kontrollen geringer, wobei der Unterschied in einigen Fällen statistisch gesichert ist. Ein einigermaßen befriedigender kura-

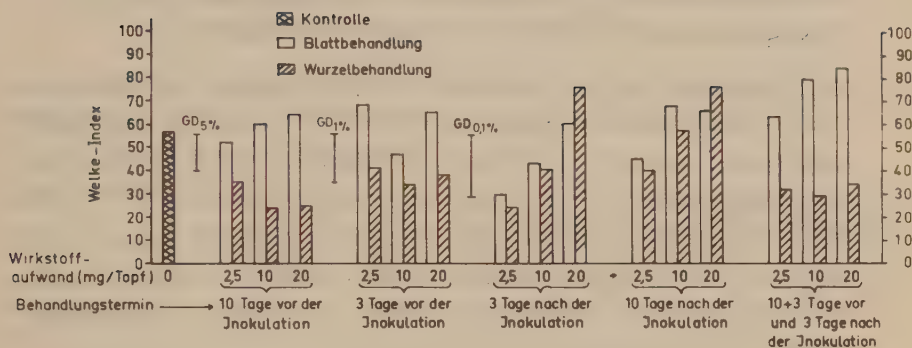


Abb. 21: Wirkung von Triforine (G 144) auf die Welkekrankheit von Tomaten, hervorgerufen durch Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. Das Ausmaß der Welkeerscheinungen (Welke-Index) wurde 18 Tage nach der Inokulation ermittelt.

tiver Effekt konnte nur bei Blatt- oder Wurzelapplikation drei Tage nach der Inokulation dann erzielt werden, wenn lediglich 2,5 mg Triforine je Topf eingesetzt wurden; höhere Aufwandmengen waren weniger wirksam, da sich phytotoxische Einflüsse des Präparates bemerkbar machten. Insgesamt zeigen die Resultate aber, daß mit einer nennenswerten Bekämpfung des Erregers durch Triforine nicht zu rechnen ist. Auch mehrmalige Anwendung des Fungizids verbessert die geschil-

dernten Ergebnisse nicht wesentlich. - Im großen und ganzen führte die Auswertung der Blattsymptome zum zweiten Termin - 30 Tage nach der Inokulation - zu den gleichen Schlußfolgerungen ; auf eine Einzeldarstellung wird daher in diesem Fall verzichtet.

Die Ergebnisse aus der Ermittlung der Gefäßbräunung sind dagegen in Tab. 11 wiedergegeben. Wiederum wird die Überlegenheit der Wurzelbehandlung erkennbar; es fällt auf, daß diese Art der Bewertung eine dreimalige Applikation von Triforine günstiger erscheinen läßt als eine nur einmalige Anwendung über die Wurzeln, unabhängig davon, ob diese prä- oder postinfektionell erfolgte. Davon abgesehen, gelangt man bei der Betrachtung der Einzeldaten hier zu dem gleichen Gesamteresultat wie bei der Besprechung der Welkeindices.

Parallel zu dem eben geschilderten Versuch lief ein besonderes Experiment: Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici wurde 10 Tage lang in Czapek-Dox-Nährlösung mit einer Wirkstoffkonzentration von 1000 ppm Triforine (G 144) gezüchtet. Anschließend wurden 5 Tomatenpflanzen im 7 - 8-Blattstadium mit diesem Pilz wie üblich inokuliert (Gruppe A). Als Kontrolle dienten zwei Gruppen von jeweils 5 Pflanzen, die mit fungizidfrei gezogenem Fusarium inokuliert wurden; die eine Gruppe von 5 Pflanzen wurden 10 Tage vor der Inokulation mit 10 mg/Topf Triforine (G 144) wurzelbehandelt (Gruppe B). Die zweite Gruppe der Kontrollpflanzen (Gruppe C) blieb unbehandelt. Bei der Auswertung 28 und wieder 47 Tage nach der Inokulation ergaben sich die folgenden Ergebnisse für die Welke-Indices:

Gruppe A	30,8 bzw. 76,6
Gruppe B	22,6 bzw. 68,6
Gruppe C	55,5 bzw. 82,6

Die Untersuchung der Gefäßbräunung führte zu ähnlichen Resultaten.

Diese Ergebnisse zeigen, daß präinfektionelle Behandlung der Pflanzen (Gruppe B) die Virulenz des Erregers stärker geschwächt hat als prä-

Tabelle 11: Wirkung von Triforine (G 144) auf die Gefäßbräunung an Tomaten, hervorgerufen durch Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. Das Ausmaß der Verbräunung wurde 30 Tage nach der Inokulation ermittelt.

Behandlungstermine	Konzentration (mg/Topf.)	Gefäßverbräunungsindex bei	
		Blattbehandlung	Wurzelbehandlg.
unbehandelt	0	92,3	92,3
10 Tage vor der Inokulation	2,5	90,8	73,4
	10	92,3	80,5
	20	95,0	77,8
3 Tage vor der Inokulation	2,5	94,7	79,7
	10	74,0	83,2
	20	90,2	75,8
3 Tage nach der Inokulation	2,5	79,5	59,8
	10	77,1	80,4
	20	80,9	94,6
10 Tage nach der Inokulation	2,5	92,0	82,1
	10	95,4	65,1
	20	89,5	87,6
3 x behandelt = 10 Tg. vor, 3 Tg. vor u. 3 Tg. nach d. Inok.	2,5	75,2	55,8
	10	99,5	59,9
	20	96,0	56,0
	GD _{5%}	14,3	14,3
	GD _{1%}	18,9	18,9
	GD _{0,1%}	24,4	24,4

infektionelle Behandlung dieses Parasiten mit 1000 ppm Triforine-Wirkstoff (Gruppe A) - einer viel höheren Wirkstoffkonzentration als sie in behandelten Pflanzen jemals vorkommen kann.

2. Wirkung einer Blindformulierung von Triforine gegenüber Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici auf Tomaten

Bei Untersuchungen in vitro hatte sich gezeigt, daß die Blindformulierung von G 144 gegenüber Fusarium und Verticillium eine fungistatische Wirkung aufweist. Es ergab sich daher die Frage, welcher Anteil an der mit Triforine (G 144) in vivo festgestellten Wirksamkeit der Blindformulierung beizumessen ist. Zu ihrer Beantwortung wurde der Effekt des reinen Wirkstoffs, von Triforine in der Formulierung G 144 (Wirkstoffgehalt 10%) und der entsprechenden Blindformulierung gegen die Fusarium-Welke an Hand einer einmaligen präinfektionellen Wurzelapplikation verglichen. Hierfür wurde luftgetrocknetem Flußsand jeweils solche Mengen von G 144, dessen Blindformulierung und reinem Triforine beigemischt, die Wirkstoffkonzentrationen von 20, 40, 80 und 160 mg/kg Sand entsprachen. Um eine möglichst gleichmäßige Verteilung im Sand, vor allem bei reinem Triforine, zu erzielen, wurde die erforderliche Menge zunächst in Aceton suspendiert und dann erst dem Sand zugesetzt, der anschließend für vier Tage flach auf einem Tisch ausgebreitet belassen wurde, um ein restloses Verdampfen des Acetons zu ermöglichen. Der Sand für die Kontrollpflanzen wurde in gleicher Weise mit reinem Aceton behandelt. Von den Gemischen erhielt ein 8 cm-Plastiktopf jeweils 250 g, wodurch für jedes Präparat Dosierungen entstanden, die Wirkstoffmengen von 5, 10, 20 und 40 mg/Topf entsprachen.

Zehn Tage nach dem Einpflanzen von 43 Tage alten Tomaten im 8 bis 9-Blattstadium, deren Wurzeln von Sand befreit und danach leicht eingekürzt wurden, erfolgte die Inokulation mit Fusarium in der bereits beschriebenen Weise sowie das Umpflanzen in 12 cm-Plastiktöpfe

mit jeweils 500 g reinem Flußsand ohne Zusatz irgendeines Präparates. 17 Tage nach der Inokulation wurde die erste Auswertung auf Fusarium-Welke vorgenommen; nach weiteren 14 Tagen (31 Tage nach der Inokulation) erfolgte die zweite Welke-Auswertung sowie die Bonitierung auf Gefäßbräunung.

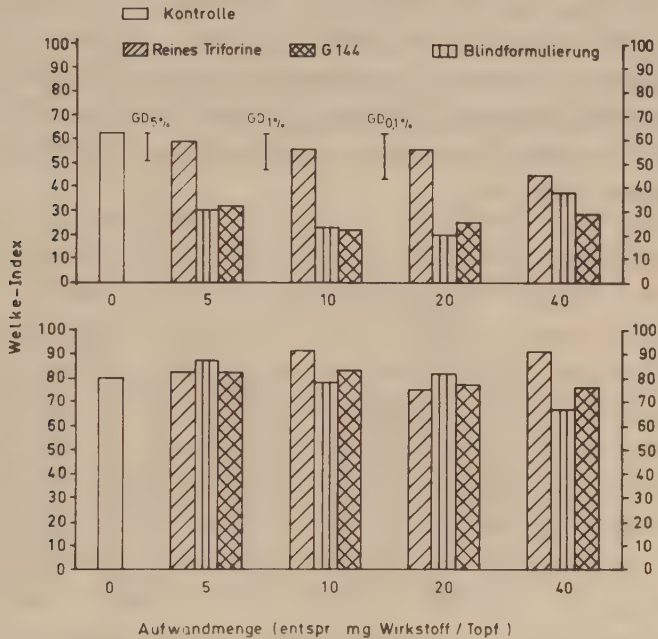


Abb. 22: Vergleich der Wirkung von reinem Triforine (Wirkstoff), der Formulierung G 144 und der entsprechenden Blindformulierung auf die Welkekrankheit der Tomate hervorgerufen durch Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. Die Präparate wurden 10 Tage vor der Inokulation über die Wurzel appliziert.
Oben: Auswertung 17 Tage nach der Inokulation.
Unten: Auswertung 31 Tage nach der Inokulation.

Schon 17 Tage nach der Inokulation wurde festgestellt, daß reines Triforine keine wesentliche Wirkung gegen die Fusarium-Welke der Tomaten aufwies (Abb. 22 oben); lediglich bei 40 mg/Topf ist ein schwacher Effekt zu erkennen. Dagegen zeigten G 144 und dessen Blindformulierung gegenüber der Kontrolle sehr gut gesicherte welkemindernde Wirkungen, und zwar schon bei einer Aufwandmenge von 5 mg/Topf. Der Effekt von G 144 und seiner Blindformulierung war bei allen Konzentrationen praktisch identisch. Bei der zweiten Auswertung (31 Tage nach der Inokulation) konnte bei keinem Präparat mehr eine nennenswerte Wirkung festgestellt werden (Abb. 22 unten). Ähnliche negative Ergebnisse brachte auch die Auswertung auf Gefäßbräunung (Abb. 23).

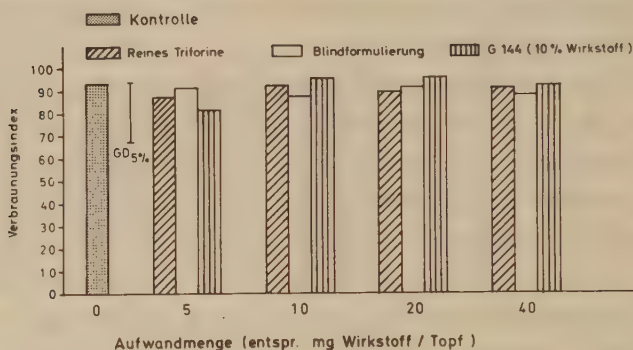


Abb. 23: Vergleich der Wirkung von reinem Triforine (Wirkstoff), der Formulierung G 144 und der entsprechenden Blindformulierung auf die Gefäßbräunung der Tomate hervorgerufen durch Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. Die Präparate wurden 10 Tage vor der Inokulation über die Wurzeln appliziert, Auswertung 31 Tage nach der Inokulation.

3. Wirkung von Triforine (G 144) auf Verticillium albo-atrum

Dieser Versuch wurde methodisch ebenso durchgeführt und enthielt die gleichen Versuchsglieder wie der entsprechende Versuch mit Fusarium; jedes Versuchsglied bestand aber aus 6 Wiederholungen. Wegen technischer Schwierigkeiten konnten die Tomatenpflanzen nicht zusätzlich belichtet werden, obwohl der Versuch in den lichtarmen Herbst-Wintermonaten durchgeführt wurde. Die erste Auswertung auf Welkesymptome erfolgte 28 Tage nach der Inokulation, während die zweite Welkeauswertung sowie die Untersuchung der Gefäßbräunung 47 Tage nach der Inokulation vorgenommen wurde.

28 Tage nach der Inokulation (Abb. 24) wurde festgestellt, daß eine Blattbehandlung mit 10 mg Triforine je Topf 10 Tage vor der Inokulation die Entwicklung von Welkesymptomen völlig unterdrückte; sonst wurde durch Blattbehandlung keine gesicherte Wirkung gegen die Verticillium-Welke erzielt. Vielmehr nahm die Ausprägung der Welkesymptome - vor allem bei dreimaliger Blattbehandlung - sogar mit steigender Aufwandmenge zu. Durch Wurzelbehandlung konnten dagegen recht gute protektive wie auch therapeutische Wirkungen gegen den Erreger erzielt werden, die um so besser waren, je höher die eingesetzte Wirkstoffmenge war. Eine Applikation 10 Tage vor der Inokulation war überraschenderweise erfolgreicher als eine solche drei Tage vor der Inokulation; bei postinfektioneller Applikation erwies sich Behandlungen zum zweiten Termin (10 Tage nach der Inokulation) als wirkungslos. Bei dreimaliger Wurzelbehandlung gelang eine völlige Unterdrückung der Symptomentwicklung.

47 Tage nach der Inokulation war kaum noch eine Wirksamkeit von Triforine gegenüber der Verticillium-Welke erkennbar. Blattbehandlung brachte überhaupt keine Befallsminderung mehr. Nur eine einmalige Wurzelbehandlung drei Tage nach der Inokulation und eine dreimalige Wurzelbehandlung führte bei den höheren Aufwandmengen zu einer einigermaßen nennenswerten Eindämmung der Krankheit. Die Auswertung auf Gefäßbräunung führte zu gleichsinnigen Resultaten.

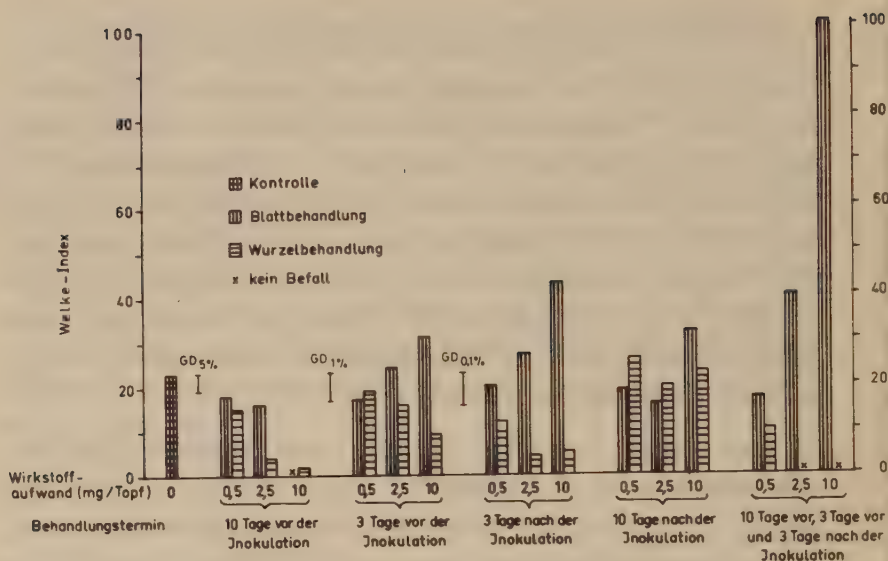


Abb. 24: Wirkung von Triforine (G 144) auf die Welkekrankheit von Tomaten, hervorgerufen durch Verticillium albo-atrum. Das Ausmaß der Welkeerscheinungen (Welke-Index) wurde 28 Tage nach der Inokulation ermittelt.

Insgesamt belegen diese Ergebnisse, daß Triforine gegenüber dem Erreger der Verticillium-Welke der Tomate nur eine ungenügende Wirkung aufweist. Auch eine Wiederholung des geschilderten Versuchs mit einigen methodischen Abänderungen (z. B. zusätzliche Belichtung der Pflanzen, höhere Wirkstoffkonzentration usw.) führte grundsätzlich zu dem gleichen Resultat.

4. Prüfung der Phytotoxizität von Triforine gegenüber Tomaten

Bei der Untersuchung der Wirkung von Triforine gegen Fusarium und Verticillium in vivo wurden auch nicht inokulierte Tomatenpflanzen mit dem Fungizid behandelt. Es stellte sich heraus, daß das Präparat je nach Aufwandmenge mehr oder weniger starke phytotoxische Erscheinungen an den Pflanzen hervorrief. Daraufhin wurden eingehendere Experimente zum Ausmaß dieser Phytotoxizität durchgeführt. Vor allem wurde untersucht, welche Beziehung zwischen Konzentration und Phytotoxizität vorlag, ob junge und ältere Pflanzen gleich empfindlich sind und welche Rolle die Formulierung spielte. Hierfür wurden sowohl Wurzel- als auch Blattbehandlungen vorgenommen, die Pflanzen jedoch nicht inokuliert.

i. Phytotoxizität in Abhängigkeit vom Alter der Pflanzen

Tomatenpflanzen wurden jeweils 28, 42 und 56 Tage nach der Aussaat mit Triforine (G 144) behandelt. Bei jeder Altersstufe wurden den Pflanzen verschiedene Konzentrationen des Präparates entweder über die Blätter oder über die Wurzeln zugeführt. Die Kontrollpflanzen blieben unbehandelt. Die Auswertung erfolgte einheitlich 45 Tage nach der Behandlung. Im einzelnen wurde der Einfluss des Fungizids auf das Trockengewicht, das Längenwachstum und das Ausmaß der Blattschädigung untersucht. Zur Blattschadenbonitierung diente das gleiche Schema, das für die Bewertung der Welkesymptome benutzt wurde.

Die Ergebnisse sind in Abb. 25 dargestellt. Danach kann Triforine in der Formulierung G 144 durchaus nennenswerte Schäden an den Pflanzen hervorrufen, wobei im allgemeinen eine Wurzelbehandlung gefährlicher ist als eine Applikation über die Blätter. Der toxische Einfluß war stets um so ausgeprägter, je jünger die Pflanzen zur Zeit der Behandlung waren. Hohe Aufwandmengen und zeitige Applikation können Totalschädigung an den Blättern hervorrufen, ein Absterben der Pflanzen oder zumindest eine beträchtliche Schwächung des Wachstums ist die Folge. Andererseits konnte nach Blattbehandlung zum dritten Termin



. Abb. 26: Einfluß von Triforine (G 144) auf 28 Tage alte Tomatenpflanzen nach Wurzelbehandlung (oben) und Blattbehandlung (unten). Aufnahme 3 Tage nach den Behandlungen. (von links nach rechts: Kontrolle, 5 mg/Topf, 20 mg/Topf und 40 mg/Topf).

eine geringfügige Steigerung des Längenwachstums beobachtet werden. Bei starken phytotoxischen Schäden sahen die Pflanzen verätzt aus (Abb. 26). Unter solchen Umständen war auch die Wurzelmasse erheblich reduziert, die Bildung von Wurzelhaaren stark unterdrückt und die Einzelwurzeln wurden braun und brüchig (vgl. Abb. 28 unter "G 144").

ii. Vergleich der phytotoxischen Wirkung von Wirkstoff und Blindformulierung

Der vorhergehende Abschnitt hat gezeigt, daß Triforine in der Formulierung G 144 teilweise erheblich phytotoxisch wirkt; doch blieb offen, ob dieser Einfluß dem Wirkstoff selbst, den Beistoffen oder beiden zusammen zuzuschreiben ist. Parallel zu dem Fusarium-Versuch mit infizierten Tomatenpflanzen (S. 72) wurde daher auch der phytotoxische Effekt von reinem Triforine, der Blindformulierung und des kompletten Präparates (G 144) getrennt untersucht, wobei die gleiche Methodik wie dort zugrundegelegt wurde. Zur Zeit der Behandlung waren die - nicht infizierten - Pflanzen 43 Tage alt (7-8-Blattstadium); nach weiteren 40 Tagen wurde das Ausmaß der Schädigung ermittelt. Das Gesamtergebnis (Abb. 27) ist sehr überraschend: In allen Fällen wirkte sich die Applikation der Blindformulierung nachteiliger auf die Entwicklung aus als eine Behandlung mit dem reinen Wirkstoff. Bei den Blattschäden war diese Tatsache weniger ausgeprägt als bei der Beeinflussung von Längenwachstum und Stengeltrockengewicht. Während etwa bei hoher Aufwandmenge der reine Wirkstoff kaum die Stengeltrockenmasse gegenüber der Kontrolle veränderte, wurde diese unter dem Einfluß der Blindformulierung um rund 50% vermindert.

Applikation des Fertigpräparates bzw. der Blindformulierung hatten wiederum starke Ätزشäden zur Folge, dagegen bewirkte Behandlung mit reinem Triforine die Bildung kleiner Flecken auf den Blättern. Die Wurzelmasse litt am stärksten unter der Blindformulierung (BF), aber auch unter dem Fertigpräparat (G 144). Durch reines Triforine verloren die Wurzeln weniger an Masse, jedoch änderte sich hier der Habitus deutlich: Die Wurzeln verbräunten, wurden brüchig und entwickelten nur wenig Wurzelhaare (Abb. 28).

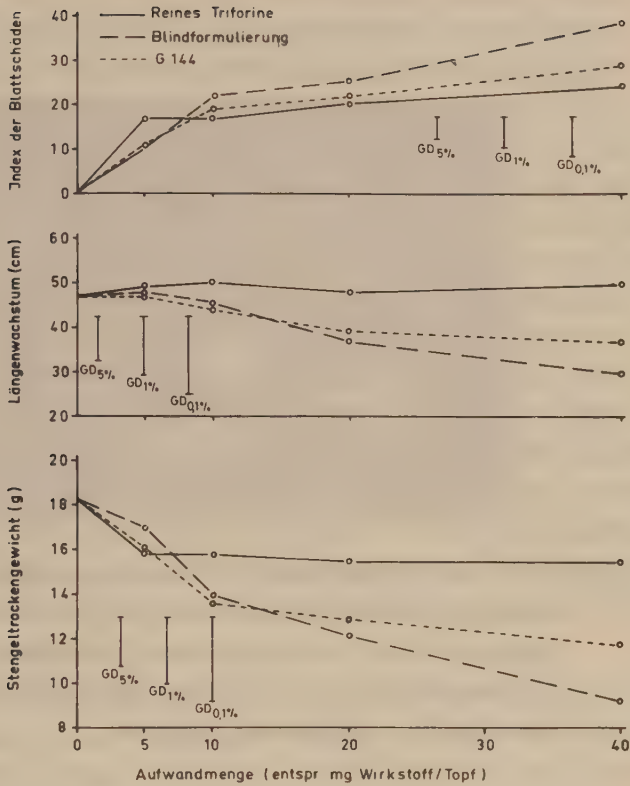


Abb. 27: Vergleich des phytotoxischen Einflusses des reinen Wirkstoffes (Triforine), der Formulierung G 144 und der entsprechenden Blindformulierung auf Tomatenpflanzen. Behandlung 43 Tage nach der Aussaat, Auswertung nach weiteren 40 Tagen.

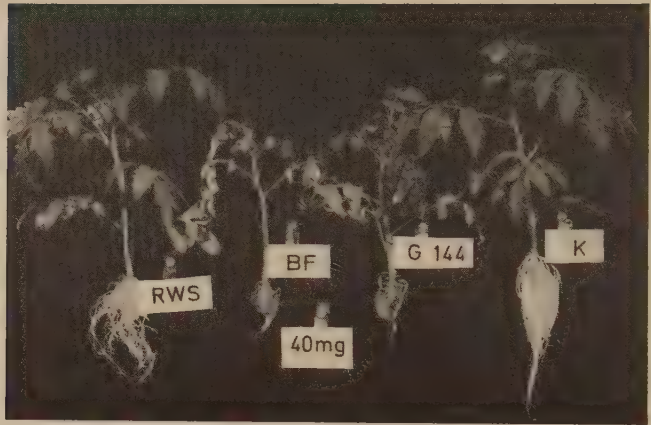


Abb. 28: Blatt- und Wurzelschäden an Tomatenpflanzen nach Wurzelbehandlung mit reinem Triforine (RWS), der Fertigformulierung G 144 und der zugehörigen Blindformulierung (BF) in Konzentrationen, die jeweils 40 mg Wirkstoff/Topf entsprachen. K = unbehandelte Kontrolle.

C. Diskussion der Ergebnisse: Welkekrankheiten der Tomate

Aus den Ergebnissen der Versuche *in vitro* wird deutlich, daß Triforine in den geprüften Konzentrationen keine fungizide, sondern lediglich eine fungistatische Wirkung gegenüber Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici und Verticillium albo-atrum ausübt. Bei allen Aufwandmengen waren beide Pilze noch fähig, zu wachsen, wenn auch langsamer als in den fungizidfreien Medien. Nach Übertragung der Pilze von einem mit Triforine behandelten Nährboden (auf dem sie

starke Wachstumshemmung und Strukturänderungen gezeigt hatten) auf ein wirkstoffreies Substrat wuchsen sie wieder normal. Die Wachstumsleistung war dabei unabhängig von der Fungizidmenge, der der betreffende Pilz vorher ausgesetzt gewesen war. Der fungistatische Effekt des Präparates auf beide Pilze war also nur vorübergehend. Die Versuche in vitro zeigten außerdem, daß zwar Fusarium und Verticillium schon auf eine geringe Triforine-Konzentration im Medium reagierten (50 ppm genügten bereits, um eine starke Wachstumshemmung hervorzurufen), eine weitere Konzentrationssteigerung jedoch nur einen geringen zusätzlichen Einfluß bei Verticillium und noch weniger bei Fusarium hatte. Vermutlich ist dies durch die geringe Wasserlöslichkeit des Wirkstoffs zu erklären. Während diese Ergebnisse für Experimente auf Agar-Substraten gelten, blieb das Wachstum von Fusarium in Nährlösungen mit Triforine praktisch unbeeinflusst, während Verticillium unter solchen Umständen eine gewisse Depression der Myzelentwicklung (Myzeltrockengewicht) erlitt. In vitro scheint Verticillium gegenüber Triforine also etwas empfindlicher zu sein als Fusarium.

Interessant ist der Befund, daß die Blindformulierung von G 144 das Myzelwachstum auf Agarmedium sehr deutlich hemmte; diese Hemmung war bei Fusarium sogar etwas stärker als durch G 144 (Triforine mit 10% Wirkstoff) selbst. Auch in flüssigem Czapek-Dox-Medium wurde das Wachstum von Fusarium bzw. Verticillium stärker durch die Blindformulierung als durch G 144 gehemmt. Der schwache Effekt des reinen Wirkstoffes im Vergleich zur Fertigformulierung bzw. zur entsprechenden Blindformulierung dürfte ebenfalls auf der geringen Wasserlöslichkeit beruhen. Daher wird der Wirkstoff wahrscheinlich weniger durch die Pilze aufgenommen als Bestandteile von G 144 und der Blindformulierung. Auf jeden Fall liegt es nahe, daß ein wesentlicher, wenn nicht der größte Teil der in vitro gegenüber Fusarium und Verticillium gezeigten Wirkung von Triforine (G 144) dem Einfluß der Begleitstoffe (der Blindformulierung) zuzuschreiben ist.

Vielen Autoren zufolge (HORSFALL et al. 1941; HOLLOMAN und YOUNG 1951; MONROE 1963; usw.) kann auf Grund von Versuchen in vitro die Leistung verschiedener Fungizide in vivo und sogar auf dem Feld ziemlich genau vorausgesagt werden. Inwieweit sich die Ergebnisse der eben diskutierten Versuche in vitro auf die Wirkung von Triforine in vivo übertragen lassen, war durch entsprechende Versuche zu klären. Die systemische Wirksamkeit eines Mittels gegenüber Krankheitserregern setzt Aufnahme und Transport in der Pflanze voraus. Die Resultate der bereits geschilderten und diskutierten Versuche mit Braunrost auf Weizen hatten eindeutig gezeigt, daß Triforine systemische Eigenschaften besitzt. Die Substanz wird von den Wurzeln der Weizenpflanzen aufgenommen und akropetal zu den Blättern transportiert. Für die systemische Translokation von Triforine in Tomaten gibt es einen indirekten Hinweis (vgl. WAIN und CARTER 1967): Appliziert man höhere Mengen der Formulierung G 144 über die Wurzeln der Tomatenpflanzen, so stellen sich Blattschäden ein.

Triforine vermag nach unseren Ergebnissen eine gewisse protektive und auch kurative Wirkung gegenüber F. oxysporum f. sp. lycopersici und V. albo-atrum auf Tomaten zu entfalten. Der Effekt ist vor allem nach Wurzelbehandlung und zu Beginn der Krankheitsentwicklung ausgeprägt, geht aber später weitgehend verloren. Der Grund für diesen Wirkungsverlust kann zur Zeit nur vermutet werden. Nach den Ergebnissen unserer Versuche in vitro wirkt Triforine gegenüber beiden Gefäßparasiten nur fungistatisch; die Pilze werden nicht abgetötet. Außerdem ist der fungistatische Effekt nur vorübergehend, denn die Pilze wachsen wieder normal, sobald sie dem Präparat nicht mehr ausgesetzt sind. Der Abbau von Triforine in der Weizenpflanze wurde in dem Versuch mit radioaktiv markiertem Triforine demonstriert. Es ist anzunehmen, daß dieses systemische Fungizid auch in der Tomate metabolisiert wird und daß die Abbauprodukte nicht fungitoxisch auf Fusarium und Verticillium wirken. Mit fortschreitendem Abbau des Fungizides würde sich das wiederholen, was in vitro registriert

wurde: Die Pilze befänden sich in einem weitgehend wirkstofffreien Milieu und könnten ihr Wachstum wieder aufnehmen. Die Erzeugung von normalen Welke-Symptomen wäre dann die Folge. Möglicherweise könnten auch die Pathogene selbst am Abbau des Wirkstoffs beteiligt sein (vgl. SOMERS 1969).

Im allgemeinen hatte Blattapplikation keine nennenswerte Wirkung gegenüber der Fusarium- bzw. Verticillium-Welke. Der Grund hierfür dürfte in Aufnahme- und Transportschwierigkeiten zu suchen sein. Wenn ein über das Blatt appliziertes Fungizid gegen einen Gefäß- bzw. Wurzelparasiten wirksam werden soll, muß das Fungizid basipetal transportiert werden. Einen nennenswerten basipetalen Transport von Triforine konnten wir jedoch in unseren Versuchen nicht feststellen. Zwar wurde eine gweise Abwärtsbewegung dieses Fungizids angedeutet (OST et al. 1971, von BRUCHHAUSEN 1971), aber die Beobachtung wurde bei Getreide (Gerste) gemacht. Außerdem ist für die Bekämpfung von Fusarium und Verticillium wie auch von anderen Gefäßparasiten ein stärkerer Fungizidtransport erforderlich (vgl. BUCHENAUER und ERWIN 1971).

Die Ergebnisse der in vivo-Versuche mit Fusarium und Verticillium stehen mit den Resultaten der Experimente in vitro insofern in Einklang, als auch in vivo keine fungizide, sondern nur eine fungistatische Wirkung von Triforine gegenüber den beiden Gefäßparasiten festgestellt werden konnte. Der Fortgang der Welkekrankheit wurde selbst im günstigsten Fall nicht verhindert, sondern lediglich verzögert. Auch eine Rückisolierung der Pathogene bestätigte, daß weder Fusarium noch Verticillium in den Pflanzen abgetötet wurde. Nach der Äußerung von SCHICKE und VEEN (1969) - "with Erysiphe graminis W 524 (Triforine) seems to need the living plant to become effective" - könnte man annehmen, daß Triforine im Roggen in eine gegenüber E. graminis fungitoxische Substanz umgewandelt wird. Da sich aber der gegenüber Verticillium und Fusarium unbefriedigende in vitro-Effekt von Triforine in vivo nicht verbessert hatte, kann für die Welke-

krankheiten der Tomate eine solche Aktivierung nicht angenommen werden.

Es ist kaum damit zu rechnen, daß durch weitere Erhöhung der Aufwandmenge von Triforine, die Wirkung gegen die Welkeerreger gesteigert werden kann. Einige Argumente sprechen nämlich gegen diese Möglichkeit: Schon die höchste angewandte Triforine-Konzentration rief, zumindest in der Formulierung G 144, starke phytotoxische Symptome an den Tomatenpflanzen hervor. Zweitens waren die dreimaligen Behandlungen mit dem Präparat nur selten signifikant wirksamer als die einmaligen Wirkstoffapplikationen. Ein drittes und sehr wichtiges Argument ergibt sich aus den Ergebnissen eines besonderen Versuches, in dem Fusarium vor der Inokulation in Tomatenpflanzen 10 Tage lang in Czapek-Dox-Nährlösung mit 1000 ppm Triforine (G 144) gezüchtet wurde (siehe S. 70): Bemerkenswert ist die Tatsache, daß trotz einer Vorbehandlung mit 1000 ppm Triforine-Wirkstoff - einer höheren Konzentration, als sie in behandelten Pflanzen jemals vorkommt - die Virulenz des Erregers kaum beeinträchtigt wird. Eine präinfektionelle Behandlung der Pflanzen, die nach der Inokulation eine unmittelbare Einwirkung des Wirkstoffs auf den Pilz ermöglicht (Gruppe B), ist effektiver als eine Vorbehandlung des Erregers (Gruppe A). Dieser Befund steht in Einklang mit der schon bei den Versuchen in vitro getroffenen Feststellung, daß die fungistatische Wirkung von Triforine gegenüber Fusarium bzw. Verticillium nur solange anhält, als die Pilze dem Fungizid unmittelbar ausgesetzt sind. Offenbar ist der Eingriff des Wirkstoffs in lebenswichtige Stoffwechselprozesse der Erreger nicht intensiv genug, um eine Abtötung hervorzurufen (vgl. DEKKER 1969).

Der Vergleich der Wirkung des Fertigpräparates G 144, dessen Blindformulierung und des reinen Triforine-Wirkstoffs gegenüber der durch F. oxysporum f. sp. lycopersici hervorgerufenen Welkekrankheit der Tomate spiegelt die Befunde in vitro wider: Die Blindformulierung erwies sich auch in vivo als ebenso wirksam wie G 144. Das reine Tri-

forine war dagegen praktisch wirkungslos. Auch der Phytotoxizitätsversuch mit den drei Präparaten erbrachte ähnliche Ergebnisse. Daraus ist zu folgern, daß sowohl die therapeutischen Einflüsse des Präparates G 144 gegen die Welkekrankheiten als auch seine phytotoxischen Effekte gegenüber Tomatenpflanzen im wesentlichen auf die Beistoffe der Formulierung zurückzuführen sind.

Insgesamt zeigen diese Untersuchungen, daß im Gegensatz zum Weizenbraunrost, ein praktischer Einsatz von Triforine gegen die durch Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici und Verticillium albo-atrum verursachten Welkekrankheiten der Tomate weder bei Blatt- noch bei Wurzelapplikation aussichtsreich erscheint. In diesem Zusammenhang sei darauf aufmerksam gemacht, daß auch gegen die Welkekrankheit der Erbse, hervorgerufen durch Fusarium oxysporum f. sp. lisi, weder durch Wurzel- noch durch Saatgutbehandlung mit Triforine eine Wirkung erzielt werden konnte (FUCHS et al. 1971).

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen über den Einfluß des neuen systemischen Fungizids Triforine auf den Braunrost des Weizens, Puccinia recondita f. sp. tritici, sowie auf die Welkekrankheiten der Tomate, hervorgerufen durch Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici und Verticillium albo-atrum, führten zu den folgenden Ergebnissen:

A. Versuche mit Braunrost auf Weizen:

1. Sowohl durch Blatt- als auch durch Wurzelbehandlungen mit Triforine (WF 114 mit 20% Wirkstoff) wurde die Keimung der Braunrosturedosporen auf dem Weizenblatt sehr deutlich und konzentrationsabhängig gehemmt. Diese Keimhemmung war besonders hoch bei Blattbehandlung, wobei die Keimung durch eine Wirkstoffkonzentration von 1000 ppm praktisch vollkommen verhindert wurde.
2. Je nach Behandlungstermin (bezogen auf den Inokulationstermin) konnte mit einer Wirkstoffkonzentration zwischen 125 und 500 ppm der Rostbefall bei Blattapplikation vollkommen verhindert werden. Zweimalige Blattbehandlung brachte bessere Ergebnisse als eine einmalige.
3. Triforine (WF 114) war sowohl protektiv als auch kurativ sehr wirksam gegen den Rostbefall; auch in dieser Hinsicht war die Blattapplikation der Wurzelbehandlung deutlich überlegen.
4. Mit 500 ppm konnte nach einer Blattbehandlung mit Triforine der Weizen mindestens 12 Tage lang vor Rostbefall geschützt werden. Ein kurativer Effekt konnte mit derselben Wirkstoffkonzentration bei Blattapplikation noch bis zu 4 Tagen nach der Inokulation erzielt werden.
5. Auch durch Saatgutbehandlungen mit Triforine wurden gewisse Wirkungen erzielt. Am wirksamsten war Saatgutinkrustierung, doch konnte selbst mit einer Aufwandmenge von 8000 g Wirkstoff/100 kg Saatgut der Rostbefall nur um etwa 60% vermindert werden.

6. Als Bodenfungizid blieb Triforine (Suspensionspulver mit 50% Wirkstoff) bei einer Konzentration von 1 g/kg (Wirkstoff/Erde) mindestens 55 Tage lang voll wirksam gegen den Braunrost des Weizens. Allerdings war diese Wirkung stark von der verwendeten Formulierung abhängig.
7. Steigende Temperaturen (0 - 32°C) verbesserten die Aufnahme von Triforine durch das Weizenblatt nur wenig; allerdings mußte der Versuch im Dunkeln durchgeführt werden.
8. Nach partieller Blattbehandlung fand eine Sekundärverteilung von Triforine statt, wodurch auch solche Blattzonen vor Rostbefall geschützt wurden, die nicht direkt mit dem Fungizid Kontakt hatten. Dabei erfolgte der Transport in erster Linie in akropetaler Richtung, nur in geringem Umfang zur Blattbasis hin. Auch neu zuwachsendes Gewebe der partiell behandelten Blätter blieb befallsfrei. Dagegen wurden Blätter, die sich erst nach der Spritzung an den behandelten Pflanzen neu entwickelten, nicht geschützt.
9. Weizen der Sorte "Jubilar" zeigte eine gute Verträglichkeit für Triforine. Selbst nach einer Blattbehandlung mit 1600 ppm, einer Konzentration, die weit über der zur Braunrostbekämpfung erforderlichen Dosis liegt, traten nur vorübergehende Schäden auf. Längenwachstum, Frischgewicht und Wassergehalt wurden nur wenig beeinträchtigt; das Trockengewicht blieb unbeeinflusst.
10. Auch die Blindformulierung von WF 114 zeigte eine gewisse befallsmindernde Wirkung gegen den Braunrost des Weizens. Diese Tatsache deutet darauf hin, daß ein Teil der Wirksamkeit von WF 114 den Beistoffen des Präparates zuzuschreiben ist.
11. Ein Versuch mit radioaktivem Triforine, in dem die Weizenpflanzen wurzelbehandelt wurden, zeigte, daß, um eine 100%ige

Wirkung gegen den Rostbefall zu erzielen, eine Wirkstoffkonzentration von ca. 9 µg/g Frischgewicht im Blatt ausreicht. Es wurde außerdem festgestellt, daß Triforine in der Weizenpflanze abgebaut wird; für eine Reduktion des Triforine-Gehaltes um 50% waren unter den Versuchsbedingungen ca. 7,5 Tage erforderlich.

B. Versuche mit Welkekrankheiten der Tomate:

1. In Vorversuchen auf Czapek-Dox-Agar zeigte Triforine in der Formulierung G 144 sowohl gegen Fusarium als auch gegen Verticillium eine deutliche, aber reversible Hemmung des Myzelwachstums. Keiner der beiden Pilze wurde von dem Fungizid abgetötet; der Habitus der Kolonien wurde jedoch deutlich verändert. Die Blindformulierung von G 144 war zumindest ebenso wirksam wie das Präparat selbst.
2. Bei Kultur im flüssigen Medium wurde das Myzeltrockengewicht von Fusarium durch Triforine (G 144) kaum beeinflusst; jedoch unterblieb die für diesen Pilz sonst typische Bildung eines violetten Farbstoffs. Dagegen wurde bei Verticillium das Myzeltrockengewicht in Abhängigkeit von der Dosis deutlich vermindert, unter gleichzeitiger schmutziggrüner bis dunkelgrauer Verfärbung der Kulturen.
3. In Topfversuchen im Gewächshaus waren anfänglich eindeutige protektive und kurative Wirkungen von Triforine (G 144) gegen die durch Fusarium bzw. Verticillium hervorgerufenen Welkekrankheiten der Tomate zu beobachten. Diese Wirkungen waren gegen Verticillium intensiver und stärker konzentrationsabhängig als gegen Fusarium. In beiden Fällen war Wurzelbehandlung der Blattbehandlung überlegen; Blattbehandlung tendierte sogar vielfach zu einer Verschärfung der Symptome.
4. Im späteren Krankheitsverlauf ging der therapeutische Effekt

von Triforine gegen die Welkekrankheiten immer mehr zurück. Lediglich bei dreimaliger Wurzelbehandlung blieb er noch bis zu 7 Wochen nach der Inokulation deutlich sichtbar.

5. Die Blindformulierung von G 144 war gegen die Fusarium-Welke genauso wirksam wie das Präparat selbst; der reine Wirkstoff hatte dagegen kaum einen Effekt. Offenbar beruht sowohl die fungitoxische als auch die therapeutische Wirkung des Präparates G 144 im wesentlichen auf den Beistoffen der Formulierung.
6. Sowohl G 144 als auch dessen Blindformulierung waren ab einer Aufwandmenge entsprechend 10 mg Wirkstoff/Topf deutlich phytotoxisch für Tomaten. Die Blindformulierung rief sogar stärkere Schäden hervor als G 144 selbst. Die Phytotoxizität des reinen Wirkstoffs war dagegen wesentlich geringer. Die Empfindlichkeit der Tomaten gegenüber Triforine (G 144) nahm mit zunehmendem Alter der Pflanze ab.
7. Im Gegensatz zum Weizenbraunrost erscheint ein Einsatz von Triforine zur praktischen Bekämpfung von Welkekrankheiten der Tomate nicht aussichtsreich.

V. SUMMARY

Triforine, a new systemic fungicide developed in 1967 by C.H.Boeh-ringer Sohn, Chemische Fabrik, Ingelheim, Germany, was tested for its effect on leaf rust of wheat, Puccinia recondita f. sp. tritici, and on the wilt diseases of tomato caused by Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici and Verticillium albo-atrum. These experiments led to the following results:

A. Experiments with wheat leaf rust:

1. Triforine (WF 114 with 20% active ingredient) clearly retarded the germination of rust uredospores on wheat leaves both when sprayed onto the leaves and when applied via the roots; the degree of retardation increased with concentration of the fungicide and was particularly high with foliar application which virtually prevented any germination at a concentration of 1000 ppm active ingredient.
2. Depending on the time of application (relative to date of inoculation) the rust attack could be completely prevented by foliar treatment with a fungicide concentration between 125 and 500 ppm active ingredient. When the plants were twice leaf-treated, the results were better than with a single treatment.
3. Triforine (WF 114) exhibited a distinct protective as well eradivative activity against wheat leaf rust; in this respect, leaf treatment was again superior to application via the roots.
4. Triforine, at a concentration of 500 ppm active ingredient, completely protected the wheat plants against rust attack for at least 12 days; this concentration of Triforine, when applied to the leaves within 3-4 days after inoculation, gave a total control of leaf rust.
5. Seed dressing with Triforine also showed some effect against

wheat leaf rust. The best result was attained through incrustation, but even with a concentration (active ingredient) as high as 8000 g/100 kg seed, the rust attack could only be reduced by about 60%.

6. As soil fungicide, Triforine (wetttable powder with 50% active ingredient), at a concentration of 1 g/kg soil, remained completely effective against leaf rust for at least 55 days. In this respect, however, the effectiveness of Triforine is very much dependent on the type of formulation used.
7. The rate of uptake of Triforine through the wheat leaves showed only a slight increase with rising temperature (0-32°C). It must, however, be pointed out that the uptake of the fungicide had to take place in the dark.
8. After partial treatment of wheat leaves with Triforine, this fungicide underwent a redistribution, thus also protecting leaf surfaces which were not directly treated against rust attack. In this respect, the transport of Triforine was mainly acropetal, downward movement to the leaf base being only slight. Tissues developing later on the partially treated leaves, were also protected against the disease. Leaves developing after the wheat plants had already been treated with the fungicide, were, however, not protected.
9. Triforine was well tolerated by Jubilar winter wheat. A leaf treatment with a concentration as high as 1600 ppm (active ingredient) - far higher than the dosage necessary for effective control of rust attack - merely caused temporary damages. The plants suffered only a slight loss in height, fresh weight and water content; the dry weight was not affected.
10. The inert ingredient of WF 114 also had some effect on the disease intensity. This fact suggests that the inert ingredient contributes to the activity of Triforine (WF 114) against the rust

attack.

11. An experiment with radioactive Triforine, in which wheat plants were root-treated, showed that a concentration (active ingredient) of about 9 $\mu\text{g/g}$ fresh weight in the wheat leaf is sufficient to prevent any pustule development on the wheat leaves. It was also established that the fungicide is decomposed in the wheat plant; under the prevailing experimental conditions, the Triforine content of the plants dropped to 50% after about 7.5 days of uptake.

B. Experiments with wilt diseases of tomato:

1. In preliminary experiments, Triforine (G 144 with 10% active ingredient) exhibited a clear but reversible retardation of the mycelial growth of both Fusarium and Verticillium on Czapek-Dox-agar medium. Neither of the two fungi was killed by the fungicide, but the habitus of their colonies were clearly altered. The inert ingredient of G 144 was at least as effective as this formulation (G 144) itself.
2. In culture in liquid medium, the dry weight of the mycelia of Fusarium was scarcely affected by Triforine (G 144); however, the production of the violet pigment, otherwise typical for this fungus, did not occur. Contrary to Fusarium, Verticillium showed a loss in dry weight of its mycelia, the rate of drop being a function of the concentration of the fungicide; Triforine also caused Verticillium to produce a dirty green to dark grey pigment in the liquid medium.
3. In pot experiments in a green house, Triforine displayed an innitially good protective as well as curative activity against the wilt diseses of tomato caused by Fusarium and Verticillium. This effect was, on the whole, greater against Verticillium which also showed a stronger dosage response than Fusarium.

Root treatments were, against both pathogens, distinctly more effective than foliar treatments which often even tended to aggravate the disease intensity.

4. At the later stages of disease development, the therapeutic effect of Triforine against both pathogens progressively disappeared; only with the plants which were three times root-treated was this effect still obvious 7 weeks after inoculation.
5. The inert ingredient of G 144 was equally effective against Fusarium wilt as the formulation (G 144) itself. Pure unformulated Triforine had little to no effect on the disease. Apparently, both the fungitoxic and the therapeutic activities of G 144 depend largely on the effect of the inert ingredient.
6. As from a concentration equivalent to 10 mg active ingredient per pot, both G 144 and its inert ingredient were clearly phytotoxic to tomato; the inert ingredient was even more toxic than G 144 itself. Compared with G 144 and its inert ingredient, pure Triforine was much less phytotoxic to the plants. The sensitivity of the tomato plants to Triforine (G 144) and its inert ingredient, however, decreased with age of the plants.
7. Contrary to wheat leaf rust, the use of Triforine for the practical control of wilt diseases of tomato does not appear promising.

VI. SCHRIFTTUM

- ALEXOPOULOS, C. J., 1960: Introduction to mycology. John Wiley & Sons Inc; New York, London; 484 pp.
- ALLEN, P. J.; 1955: The role of a self-inhibitor in the germination of rust uredospores. *Phytopathology* 45 : 259 - 266.
- ALLEN, P. J; R. N. STRANG and M. A. ELNOGHY, 1971: Properties of germination inhibitors from stem rust uredospores. *Phytopathology* 61: 1382 - 1389.
- BELL, A. A. and J. M. DALY, 1962: Assay and partial purification of self-inhibitors of germination from uredospores of the bean rust fungus. *Phytopathology* 52: 261 - 266.
- BEWLEY, W. F.; 1922: Sleepy disease of the tomato. *Ann. appl. Biol.* 9: 116 - 134.
- BHATTACHARYA, P. K; J. M. NAYLOR and M. SHAW, 1965: Nucleic acid and protein changes in wheat leaf nuclei during rust infection. *Science* 150: 1605 - 1607.
- BOLLEY, H. L; 1905: Experiments on internal tree feeding and medication. *N. Dakota Agric. Expt. Sta. Ann. Rept.* 15: 56.
- BRANCATO, F. P. and N. S. GOLDING, 1953: The diameter of the mold colony as a reliable measure of growth. *Mycologia* 45: 848 - 864.
- BROOKS, F. T. and M. A. BALLEY, 1919: Silver leaf disease III. *J. Agric. Sci.* 9: 189 - 215.
- BUCHENAUER, H. and D. C. ERWIN, 1971: Control of Verticillium wilt of cotton by spraying foliage with benomyl and thiabendazole solubilized with hydrochloric acid. *Phytopathology* 61: 433 - 434.
- COBB, N. A; 1892: Contribution to an economic knowledge of the Australian rusts (Uredinea). *Agric. Gaz. N.S.W.* - 68; 181 - 212. (Zit. nach PETERSON et al. 1948).

- DEKKER, J; 1969: Acquired resistance to fungicides. Wld. Rev. Pest. Control
8: 79 - 85.
- DIMOND, A.E; D. AAVIS; R.A. CHAPMAN and E.M. STODDARD,
1952: Plant chemotherapy as evaluated by the Fusarium
wilt assay on tomatoes. Conn. Agric. Expt. Sta. Bull. 557.
- DODOFF, D.N; 1931: Physiologic forms in the leaf rust of wheat
(Puccinia triticina Eriksson) in Bulgaria. Zemled elska
Misal, II. 2.
- EBENEBE, CH; H. FEHRMANN and F. GROSSMANN, 1971: Effect of
a new systemic fungicide, piperazin - 1,4-diyl-bis-
[1-(2, 2, 2-trichloroethyl) formamide], against wheat
leaf rust. Pl. Dis. Repr. 55: 691 - 695.
- ENGELHARD, A.W; 1957: Host index of Verticillium albo-atrum Rein-
ke & Berth. Pl. Dis. Repr. 244: 23 - 49.
- FRENCH, R.C; 1961: Stimulation of urediospore germination in wheat
stem rust by terpens and related compounds. Bot.
Gaz. 122: 194 - 198.
- FROMME, F.D; 1915: Negative heliotropism of urediospore germ tubes.
Am. J. Bot. 2: 82.
- FUCHS A. and F.W. De VRIES, 1969: Metabolism of radioactively
labelled quinic acid and shikmic acid in healthy and
fusarium-infected tomato plants. Neth. J. Pl. Path. 75:
186 - 192.
- FUCHS, A; S. DOMA and J. VÖRÖS, 1971: Laboratory and greenhouse
evaluation of a new systemic fungicide, N,N'-bis
(1-formamido-2,2,2-trichloroethyl)-piperazine (Cela
W 524). Neth. J. Pl. Path. 77: 42 - 54.
- GÄUMANN, E; 1959: Beitrag zur Kryptogamenflora der Schweiz. 12:
Bern.

- GASSNER, G und G. O. APPEL, 1927: Untersuchungen über die Infektionsbedingungen der Getreidepilze. Arb. d. Biolog. Reichsanst. 15: 417.
- GOTTLIEB, D; 1944a: The mechanism of wilting caused by Fusarium bulbigenum var. lycopersici. Phytopathology 34: 41 - 49.
- GROSSMANN, F; 1962a: Untersuchungen über innertherapeutische Wirkung organischer Fungizide. 1. Mitt. Thiocarbamate und Thiurame. Z. PflKrankh. PflPath. PflSchutz 64: 718 - 728.
- HASSEBRAUK, K; 1938: Beiträge zur chemischen Bekämpfung von Rost auf Kulturpflanzen: Angew. Bot. 20: 366 - 373.
- HEITTEFUSS, R; 1966: Untersuchungen zur Physiologie des temperaturgesteuerten Verträglichkeitsgrades von Weizen und Puccinia graminis tritici. II. Veränderungen des Nukleinsäurestoffwechsels. Phytopath. Z. 55: 67 - 85.
- HERBERT, F.W. and J.W. HUBBARD, 1932: Verticillium wilt (Hidromycosis) of cotton in San Joaquin valley of California. U.S. Dept. Agric. arc. 211: 7 pp.
- HIMMELICK, E.B; 1968: Verticillium wilt of trees and shrubs. Illinois Natural History Survey, Biological Notes 66: 1 - 8 .
- HOCK, W.K. and H.D. SISLER, 1969: Specificity and mechanism of antifungal action of chloroneb. Phytopathology 59: 627 - 632.
- HOLLOMAN, A, JR. and R.A. YOUNG, 1951: Selection by laboratory assay of fungicides for field control of Botrytis leaf spot of gladiolus. Phytopathology 41: 940.

- HORSFALL, J.G; J.W. HEUBERGER and A.E. DIMOND, 1941: Predicting protective value of fungicides in the laboratory. Phytopathology 31: 545 - 563.
- HOWARD, F.L; 1939: The values of testing fungicides in the laboratory before use in the field. Proc. Am. Soc. hort. Sci. 37: 409 - 414.
- HOWARD, F.L; 1941: Antidoting toxin of Phytophthora cactorum as a means of plant disease control. Science 94: 345.
- JACKSON, A.O. and H.C. YOUNG JR; 1967: Teliospore formation by Puccinia recondita f. sp. tritici on seedling wheat plants. Phytopathology 57: 793 - 794.
- JAWORSKI, E.G. and P.F. HOFFMAN, 1963: Chemotherapeutic control of wheat leaf rust with phenylhydrazones. Phytopathology 53: 639 - 642.
- KAARS SJPESTEIJN, A; 1970: Biochemical action of agricultural fungicides. Wld. Rev. Pest Control 9: 85 - 93.
- KOSSWIG, W; 1955: Die Symptomatologie der Fusarium-Welke der Gurke (Cucumis sativus L.) und ihr Verhältnis zu den Welkekrankheiten anderer Pflanzen. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin.
- KRADEL, J. und E.H. POMMER, 1969: Chemische Bekämpfung von Blatt- und Ährenkrankheiten bei Getreidebau. Aus einem unveröffentlichten Manuskript - (Vortrag von POMMER 1969).
- LIVINGSTON, J.E; 1953: The control of leaf and stem rust of wheat with chemotherapeutants. Phytopathology 43: 496 - 499.
- LOWELL, B.J; F.P. ZSCHELLE JR. and B.L. BRANNAMAN, 1967: Effect of Puccinia recondita infection on the RNA composition of wheat leaves. Phytopathology 57: 632 - 638.

- LUNDERSTÄDT, J. und W.H. FUCHS, 1968: Hexokinaseaktivität in rostinfizierten Weizenblättern, Z. PflPhysiol. 59: 445 - 456.
- MACKO, V; R.C. STAPLES and J.A.A. RENWICK, 1971: Germination self-inhibitor of sunflower and snapdragon rust uredospores. Phytopathology 61: 902.
- MAINS, E.B. and H.S. JACKSON, 1926: Physiologic specialisation in the leaf rust of wheat, Puccinia triticina Erikss. Phytopath. Z. 1 : 16.
- MARSH, R.W; 1936: Notes on the technique for laboratory evaluation of protective fungicides. Br. mycol. Soc. Trans. 20: 304 - 309.
- McCALLAN, S.E.A. and R.H. WELLMAN, 1943a: A greenhouse method for evaluating fungicides by means of tomato foliage diseases. Contr. Boyce Thompson Inst. 13: 93 - 134.
- MONROE, C.M; 1963: Comparison of in vitro and in vivo bioassay of foliage fungicides. Dissertation Abstracts 24(3). 926.
- MÜLLER, H.J; 1968: Pflanzenschutz: - Prüfung von Pflanzenschutzmitteln: - Systemfungizidprüfung.
"Standardisierung" 1: 7. Jg. 40 - 42.
- MÜLLER, J. und H. MELCHINGER, 1964: Methoden der Mikrobiologie. Stuttgart: Franckh'sche Verlagshandlung.
- NORTON, J.B.S; 1933: The Fusarium wilt of tomatoes. Univ. Maryland Agric. Expt. Sta. Bull. 345: 487 - 489.
- OST, W; V. von BRUCHHAUSEN and CH. DRANDAREVSKI, 1971: Transport of the systemic fungicide, Celsa W 524 in barley plants (Part 1). Pestic. Sci. 2: 219 - 224.
- PELTIER, G.L; 1925: A study of the environmental conditions influencing the development of stem rust in the absence of alternate host. Nebraska Sta. Res. Bull. 35: 1.

- PETERSON, R. F; A. B. CAMPBELL and A. E. HANNAH, 1948: A diagrammatic scale for estimating the rust intensity on leaves and stems of cereals. Can. J. Res. 26: 496 - 500.
- QUICK, W. A. and M. SHAW, 1964: The physiology of host-parasite relations. XIV: The effect of rust infection on the nucleic acid content of wheat leaves. Can. J. Bot. 42: 1531 - 1540.
- REISENER H, J; 1968: Untersuchungen über Stoffwechselbeziehungen zwischen Parasit und Wirt am Beispiel von Puccinia graminis auf Weizen. Ber. Dtsch. Ges. 81: (9); 430.
- ROBINSON, H. J; H. F. PHARES and O. E. GRAESSLE, 1964: Antimycotic properties of thiabendazole. J. Invest. Dermat. 42: 479 - 482.
- RUMBOLD, C; 1915: Methods of injecting trees. Phytopathology 5: 225 - 229.
- SAARI, E. E; H. C. YOUNG Jr. and M. F. KERNKAMPF, 1968: Infection of North American Thalictrum spp. with Puccinia recondita f. sp. tritici. Phytopathology 58: 939 - 943.
- SAMBORSKI, D. J; 1962: A mutation in Puccinia recondita Rob. ex Desm. f. sp. tritici to virulence on transfer. Chines X Aegilops umbellata Zhuk. Can. J. Bot. 41: 475 - 479.
- SAVULESCU Jr; 1933: Beitrag zur Kenntnis der Biologie der Puccinia-Arten, die den Weizen in Rumänien befallen. Z. PflKrankh. PflPath. PflSchutz. 10: 577 - 594.
- SCHICKE, P; 1969: Schriftliche Mitteilung.
- SCHICKE, P. and K. H. VEEN, 1969: A new systemic Cela W524-N, N' - bis (1-Formamido-2, 2, 2-trichloroethyl)-piperazine with action against powdery mildew and apple scab. Proc. 5th Brit. Insect. Fung. Conf. 2: 569 - 575.

- SCHIPPER Jr. A. L; G. F. STALLKNECHT and C. J. MIROCHA, 1969:
a simple procedure to obtain synchronous germination
of uredospores. *Phytopathology* 59: 1008 - 1009.
- SCHLICHER, E; 1933: Beiträge zur Rostfrage, *Z. PflKrankh. PflPath. PflSchutz.* 43: 533 - 562.
- SHAW, M; 1963: The physiology of host-parasite relations XV. Fine
structure in rust-infected wheat leaves. *Can. J. Bot.*
43: 1285 - 1292.
- SKINNER, C. E; C. W. EMMONS and H. M. TSUCHIYA, 1947: Molds,
yeasts and actinomycetes. Ed. 2 XIV. John Wiley
& Sons Inc. New. York. 409 pp.
- SOMERS, E; 1969: Fungicide selectivity and specificity. *Wld. Rev. Pest
Control* 8 : 95 - 100.
- STAKMAN, B. C; 1914 : A. study in the cereal rusts; Physiological
races. *Minnesota Agric. Expt. Sta. Bull.* 138.
- STEINER, H. E; 1930: Die Saugkraft, ein Merkmal zur Charakterisie-
rung der Braunrostbiotypen. *Phytopath. Z.* 2: 199.
- STOCK, F; 1931: Untersuchungen über Keimung und Keimschlauchwachs-
tum der Uredosporen einiger Getreideroste. *Phytopath.*
Z. 3 : 231 - 279.
- STROEDE, W; 1933: Ueber den Einfluß von Temperatur und Licht auf
die Keimung der Uredosporen von Puccinia glumarum
f. sp. tritici (Schmidt) Erikss. et Henn. *Phytopath.*
Z. 5: 613 - 624 .
- SUBRAMANIAN, C. V; 1946: The saprophytic activity of Fusarium vasin-
fectum, the cotton wilt pathogen in the soil. (Iyengar
Commen. vo.) *J. Ind. Bot. Soc.* 201 - 213.
- SUBRAMANIAN, C. V; 1950: Soil conditions and wilt diseases in plants,
with special reference to Fusarium vasinfectum Alk.
on cotton. *Proc. Ind. Acad. Sci.* 31: 67 - 102.

- SYAMANANDA, B and R.C. STAPLES, 1961: The problem of germinating uredospores. Phytopathology 51: 579.
- TAKAHASHI, K; YAMADA and H. TAKAHASHI, 1965: Teleutospore formation of wheat leaf rust, Puccinia recondita f. sp. tritici on young seedlings of wheat. I. Isolate-variety relation and some characters of teleutospores. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 30(1): 54 - 61.
- TAYLOR, M.E. U; 1968: Resistance in Verticillium. The biochemical approach. Span 11(2): 96 - 99.
- von BRUCHHAUSEN, V; 1971: Mündliche Mitteilung.
- von SCHMELING, B. and M. KULKA, 1966: Systemic fungicidal activity of 1,4-oxathiin derivatives. Science 152: 659 - 660.
- WAIN, R.L. and G.A. CARTER, 1967: Uptake, translocation and transformations by higher plants. In Torgeson, D.C. "Fungicides" - an advanced treatise, vol. 1, 561 - 611. Academic Press, New York and London.
- WELLMAN, F.L; 1941: Epinasty of tomato, one of the earliest symptoms of Fusarium wilt. Phytopathology 31: 281 - 283.
- WILHELM, S; 1955: Longevity of Verticillium wilt fungus in the laboratory and in the field. Phytopathology 45: 180 - 181.
- WOLLENWEBER, H.W; 1913: Pilzparasitäre Welke-Krankheiten der Kulturpflanzen. Ber. D. Bot. Ges. 31: 17 - 34.
- WOLLENWEBER, H.W. und O.A. REINKING, 1935: Die Fusarien - ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung. Verlagsbuchhandlung Paul Parey, Berlin.
- YARWOOD, C.E; 1956: Simultaneous self-stimulation and self-inhibition of uredospore germination. Mycologia 48: 20 - 24.
- ZACHARIAH, A.T.; 1949: Micro-ecology of soils of cultivated fields of South India with special reference to the occurrence and physiology of fusaria. Ph.D. thesis, Univ. Madras.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Professor Dr. F. Großmann für die Überlassung des Themas, die unermüdliche und vielfältige Unterstützung und das stete Interesse am Fortgang der Arbeit.

Zugleich danke ich Herrn Professor Dr. H. Fehrmann für zahlreiche und wertvolle Ratschläge bei der Versuchsplanung, sowie bei der Abfassung des Manuskripts.

Ferner bedanke ich mich bei allen Institutsangehörigen für ihre Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Dank schulde ich auch der Otto Benecke Stiftung in Bonn, sowie der Firma C.H.Boehringer Sohn, Ingelheim, für die finanzielle bzw. materielle Unterstützung.

Lebenslauf

Am 15.11.38 wurde ich als Sohn des Landwirts, Ebenebe Ebunuoha und seiner Ehefrau, Maria Amalaozo, geborene Udeomasi, in Oghe, Ost-Nigeria geboren.

- | | |
|-------------|--|
| 1944 - 1952 | Besuch der Volksschule. |
| 1952 - 1959 | Besuch des Gymnasiums - Government College, Ughelli, Mittelwest-Nigeria: 1957, Erwerbung des "West African School Certificate"; 1959, Erwerbung des "Cambridge Higher School Certificate". |
| 1960 | Tätigkeit als Schreiber am "Ministry of Justice", Enugu, Nigeria und als Lehrer der Chemie und Biologie an der "National Grammar School", Nike, Enugu, Nigeria. |
| 1960 - 1963 | Studium der Botanik und Zoologie und Erwerbung des "B.Sc. Honours"-Grades an der Ibadan Universität, West-Nigeria. |
| 1963 | Tätigkeit als Lehrer der Biologie an der "National Grammar School", Nike, Enugu, Ost-Nigeria. |
| 1963 - 1964 | Tätigkeit am "Agricultural Research Station", Umu-dike, Umuahia, Ost-Nigeria. |
| 1964 - 1965 | Besuch der Sprachschule für Russisch an der Staatsuniversität, Moskau mit einem UNESCO - Stipendium. |
| 1965 - 1966 | Deutschkurs in Wickrat/Niers und am Sprachinstitut Walchensee, Ober-Bayern, BRD. |
| 1966 - 1969 | Studium und Erwerbung des Diploms (Dipl. Ing. agr.) an der Landwirtschaftliche Fakultät (Fachbereich Angewandte Biologie) der Universität Gießen. |
| 1969 - 1972 | Als Doktorand am Institut für Phytopathologie der Universität Gießen mit der Anfertigung der vorliegenden Dissertation beschäftigt. |

